

Министерство образования и науки Российской Федерации

УДК 575:61

ГРНТИ 34.01.00, 34.23.00, 34.35.51

Инв. №

ПРИНЯТО:	УТВЕРЖДЕНО:
Исполнитель: Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский государственный университет им. А.М. Горького»	Государственный заказчик Министерство образования и науки Российской Федерации
От имени Руководителя организации _____/Иванов А.О./	От имени Государственного заказчика _____/_____/

НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКИЙ ОТЧЕТ

о выполнении 2 этапа Государственного контракта
№ П1709 от 23 сентября 2009 г. и Дополнению от 29 октября 2009 г. № 1, Дополнению от 02
апреля 2010 г. № 2

Исполнитель: Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский государственный университет им. А.М. Горького»
Программа (мероприятие): Федеральная целевая программ «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг., в рамках реализации мероприятия № 1.3.2 Проведение научных исследований целевыми аспирантами.
Проект: Молекулярно-генетические основы онтогенетической и генотипической адаптации у <i>Drosophila melanogaster</i>
Руководитель проекта: _____/Давиденко Ксения Александровна (подпись) М.П.

Екатеринбург
2010 г.

Министерство образования и науки Российской Федерации

УДК 575:61

ГРНТИ 34.01.00, 34.23.00, 34.35.51

Инв. №

УТВЕРЖДЕНО:
Исполнитель: Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский государственный университет им. А.М. Горького»
От имени Руководителя организации _____/Иванов А.О./

НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКИЙ ОТЧЕТ

о выполнении 2 этапа Государственного контракта
№ П1709 от 23 сентября 2009 г. и Дополнению от 29 октября 2009 г. № 1, Дополнению от 02
апреля 2010 г. № 2

Исполнитель: Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский государственный университет им. А.М. Горького»
Программа (мероприятие): Федеральная целевая программ «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг., в рамках реализации мероприятия № 1.3.2 Проведение научных исследований целевыми аспирантами.
Проект: Молекулярно-генетические основы онтогенетической и генотипической адаптации у <i>Drosophila melanogaster</i>
Руководитель проекта: _____/Давиденко Ксения Александровна (подпись) М.П.

Екатеринбург
2010 г.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ИСПОЛНИТЕЛЕЙ
по Государственному контракту П1709 от 23 сентября 2009 на выполнение поисковых
научно-исследовательских работ для государственных нужд

Организация-Исполнитель: Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Уральский государственный университет им. А.М. Горького"

Руководитель темы:

без ученой степени, без
ученого звания

_____ Давиденко К.А.
подпись, дата

Исполнители темы:

без ученой степени, без
ученого звания

_____ Марвин Н. А.
подпись, дата

без ученой степени, без
ученого звания

_____ Антосюк О.Н.
подпись, дата

Реферат

Отчет 97 с., 5 ч., 35 рис., 0 табл., 9 источн., 20 прил.

DROSOPHILA MELANOGASTER , генетическая ассимиляция , отбор , VESTIGIAL , SCALLOPED , морфометрия крыла , жизнеспособность , эмбриональные летали , апоптоз , имагинальный диск , химиотерапия , облучение

В отчете представлены результаты исследований, выполненных по 2 этапу Государственного контракта № П1709 "Молекулярно-генетические основы онтогенетической и генотипической адаптации у *Drosophila melanogaster*" (шифр "НК-366П") от 23 сентября 2009 по направлению "Физико-химическая молекулярная и клеточная биология" в рамках мероприятия 1.3.2 "Проведение научных исследований целевыми аспирантами.", мероприятия 1.3 "Проведение научных исследований молодыми учеными - кандидатами наук и целевыми аспирантами в научно-образовательных центрах" , направления 1 "Стимулирование закрепления молодежи в сфере науки, образования и высоких технологий." федеральной целевой программы "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" на 2009-2013 годы.

Цель работы - разработка удобных рабочих моделей для анализа явления генотипической и онтогенетической адаптации; В соответствии с основной целью, нами были поставлены следующие задачи: 1 - продолжить длительный направленный отбор на частоту встречаемости повреждения крыла типа «вырезка» в ряду линий дрозофилы, несущих мутацию vestigial в гетерозиготном состоянии; 2 - дополнительно создать ряд линий *Drosophila melanogaster* для исследования явлений генотипической и онтогенетической адаптации; 3 - применить созданные линии для достижения цели исследования, используя анализ частоты встречаемости повреждения крыла типа «вырезка», комплексный анализ жизнеспособности и анализ морфологической изменчивости крыла на различных стадиях онтогенеза 4 - усовершенствовать следующие методы оценки результатов генетической ассимиляции: а) метод анализа жизнеспособности (общая и индивидуальная плодовитость, частота встречаемости эмбриональных и постэмбриональных леталей); б) метод анализа морфологической изменчивости крыла дрозофилы; 5 - для изучения онтогенетической и генотипической адаптации у *Drosophila melanogaster* использовать влияние стресса химической природы на примере аминоптерина; 6 - для изучения онтогенетической и генотипической адаптации у *Drosophila melanogaster*

использовать влияние стресса физической природы на примере рентген-облучения; 7 - в ходе генетической ассимиляции в линиях, гетерозиготных по гену *vestigial*, установить наличие взаимодействия на молекулярном уровне продуктов генов *vestigial* и *scalloped*, фенотипическим проявлением которого является обнаружение спонтанной рецессивной мутации *scalloped (sd)*. 8 - проанализировав полученный экспериментальный материал, установить источники, лежащие в основе генетической ассимиляции на молекулярном уровне.

Метод длительного направленного отбора;

Метод подсчёта частоты встречаемости повреждения крыла типа «вырезка»;

Метод анализа морфологической изменчивости крыла дрозофилы по 24-м параметрам;

Методы рентген и гамма облучения личинок дрозофилы;

Метод секвенирования фрагментов ДНК по P. Senger.

Компьютеры уровня не ниже Intel Pentium IV, Лицензионное программное обеспечение компании Microsoft, весы электронные аналитические AUX-320, микроскоп Leica CTR 5000, Секвенатор ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA), аппарат для постановки полимеразной цепной реакции 7500 Real Time PCR System.

На 2 этапе НИР, в соответствии с заявленной проблемой «Молекулярно-генетические основы онтогенетической и генотипической адаптации у *Drosophila melanogaster*», были усовершенствованы методы оценки результатов генетической ассимиляции на уровне морфологической изменчивости крыла. Произведён переход на более современные методы анализа морфометрии крыла, а именно: аналитическую и статистическую обработку цифровых фотографий крыла, при этом разработан способ сопоставления со стандартной методикой анализа морфометрии. Также осуществлено создание и применение рабочих моделей (линий *Drosophila melanogaster*) для изучения влияния стрессов химической и физической природы как источников наследственной изменчивости в ходе генетической ассимиляции. В качестве основного показателя пригодности модели взята частота повреждения крыла типа "вырезка" (результат апоптоза). В ходе генетической ассимиляции в линиях, гетерозиготных по гену *vestigial*, установлено наличие взаимодействия на молекулярном уровне продуктов генов *vestigial* и *scalloped*, фенотипическим проявлением которого является обнаружение спонтанной рецессивной мутации *scalloped (sd)*.

В ходе создания межлинейных гибридов от скрещивания линий дикого типа

на vestigial, обнаружено явление скрытой наследственной изменчивости. Благодаря методам, использованным в работе, дана качественная и количественная характеристика процесса генетической ассимиляции, обнаруженного в ходе исследований. Морфометрия крыла, широко используемая в наших экспериментах, позволила распознать на уровне дифференцировки скрытые процессы перестройки генома.

Нами был проанализирован полученный экспериментальный материал и установлены возможные источники, лежащие в основе генетической ассимиляции на молекулярном уровне. Произведён анализ и обобщение полученных экспериментальных и теоретических результатов исследований, сделана оценка полноты решения задач и сопоставление данных с современным научно-техническим уровнем по направлению «Физико-химическая молекулярная и клеточная биология». Составлен научный отчет. Подготовлена 1 публикация в ведущий научный журнал, 1 публикация во всероссийской конференции, материалы которой принимаются ВАК, 2 публикации в международный конференциях и тезисы в международной конференции со ссылкой на проведение НИР в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы.

Дополнение от 23 октября 2009 №1/П1709 и дополнение от 02 апреля 2010 г. № 2

Содержание

Введение	8	
1. Аннотированная справка по научным результатам НИР, полученным на I этапе.	11	
2. Аналитический отчет о проведении экспериментальных исследований.....	14	
2.1. Сведения об исследуемой проблеме.....	14	
2.2. Описание методов выполнения работы	15	
2.2.1. Метод длительного направленного отбора.....	15	
2.2.2. Метод подсчёта частоты встречаемости повреждения крыла типа «вырезка».....	16	
2.2.3. Метод изучения морфометрической изменчивости крыла	17	
2.2.4. Методы рентген и гамма облучения личинок дрозофилы	17	
2.2.5. Метод секвенирования фрагментов ДНК по P. Senger	17	
2.3. Выбор обоснованного варианта направления исследования	19	
2.4. План проведения экспериментальных исследований	22	
С 21.08.2010 по 14.09.2010	2.5. Результаты экспериментальных исследований	24
2.5. Результаты экспериментальных исследований	25	
2.5.1. Усовершенствование методов оценки результатов генетической ассимиляции на уровне морфологической изменчивости крыла на различных стадиях онтогенеза.	25	
2.5.2. Создание и применение рабочих моделей (линий <i>Drosophila melanogaster</i>) для изучения влияния стрессов химической и физической природы как источников наследственной изменчивости в ходе генетической ассимиляции.	30	
2.5.3. Обнаружение наличия взаимодействия на молекулярном уровне продуктов генов <i>vestigial</i> и <i>scalloped</i>	49	
2.5.4. Исследование явления скрытой наследственной изменчивости в ходе создания межлинейных гибридов от скрещивания линий дикого типа на <i>vestigial</i>	55	
2.5.5. Анализ полученного экспериментального материала, установления возможных источников, лежащих в основе генетической ассимиляции на молекулярном уровне..	58	
3. Отчет по обобщению и оценке результатов исследований.	61	
4. Публикации результатов НИР.....	64	
Заключение.....	72	
Список используемых источников	75	

Введение

В данной работе мы исследуем механизмы генотипической и онтогенетической адаптации у *Drosophila melanogaster*. Явление генотипической адаптации (генетической ассимиляции) занимает очень важное место в разработке представлений о роли наследственной и ненаследственной (онтогенетической) изменчивости и возможной связи между этими двумя понятиями. В настоящее время, судя по литературным данным, общепринято считать, что нет чёткой границы между наследственной и ненаследственной изменчивостью, и в основе этих явлений могут лежать общие молекулярные механизмы. В ряде работ обсуждается возможность существования направленной наследственной изменчивости не только у прокариот, но и у эукариот, что имеет важное не только теоретическое, но и практическое значение. Конкретные механизмы, лежащие в основе генетической ассимиляции, до сих пор не вполне ясны, особенно на молекулярном уровне. Поэтому в качестве удобного косвенного показателя при изучении данного явления мы использовали частоту встречаемости повреждений крыла дрозофилы и морфометрический анализ крыла исследуемых линий дрозофилы.

Онтогенетическая адаптация проявляется у организмов в результате реакции на воздействие стрессовых факторов. Нами был исследован химический стресс на основе цитостатического влияния аминоптерина - препарата, использовавшегося в медицине для лечения раковых заболеваний. Так как скорость деления раковых клеток крайне велика, в ходе химиотерапии в результате генетической ассимиляции могут возникнуть новые варианты клеток, не чувствительных к данному виду воздействия (лечения). Поэтому актуальной, и даже необходимой в настоящее время является разработка биологической системы для изучения чувствительности клеток к химическим противораковым препаратам. Такой тестовой модельной системой и может являться линия *Drosophila melanogaster*. В данном случае, направленный отбор в ряду поколений линии дрозофилы, подвергнутой воздействию аминоптерина, моделирует ускоренное размножение клеток раковой опухоли в условиях введения в организм цитостатика. Основными показателями этой системы для оценки влияния химических препаратов в нашей работе являются: частота встречаемости повреждения крыла, морфометрический анализ крыла и разработанный нами комплексный анализ жизнеспособности, применённый на 1 этапе исследования.

Данная модельная тест-система рассчитана на анализ материала с точки зрения способности клеток к апоптозу (запрограммированной гибели клеток).

Также, изучение явления генотипической и онтогенетической адаптации с точки зрения генотипической адаптации имеет другую важную практическую значимость. На

фоне глобального загрязнения среды, в первую очередь антропогенного происхождения, учитывая явление генетической ассимиляции (другими словами, возможность замены в организме внешних факторов воздействия внутренними, наследственно закреплёнными), возникает реальная возможность увеличения частоты возникновения генетически обусловленных патологий. При этом, особенно важное значение приобретает такой фактор, как частое применение фармакологических препаратов в медицинских целях. Этому вопросу в большой степени была посвящена работа над 2 этапом НИР.

Предварительные исследования по данной теме, осуществляемые с 1992 года в лаборатории генетики животных УрГУ, и частично опубликованные нами, позволило выйти в течение двух лет (2009, 2010гг.) по ряду вопросов на завершающий этап.

Исходя из полученных предварительных результатов, можно проследить увеличение частоты встречаемости наследственно обусловленных патологий при постоянном стрессовом воздействии.

Целью нашей работы явилось следующее:

- разработка удобных рабочих моделей для анализа явления генотипической и онтогенетической адаптации;

В соответствии с основной целью, нами были поставлены задачи:

- 1) продолжить длительный направленный отбор на частоту встречаемости повреждения крыла типа «вырезка» в ряду линий дрозофилы, несущих мутацию vestigial в гетерозиготном состоянии;

- 2) дополнительно создать ряд линий *Drosophila melanogaster* для исследования явлений генотипической и онтогенетической адаптации;

- 3) применить созданные линии для достижения цели исследования, используя анализ частоты встречаемости повреждения крыла типа «вырезка», комплексный анализ жизнеспособности и анализ морфологической изменчивости крыла на различных стадиях онтогенеза

- 4) усовершенствовать следующие методы оценки результатов генетической ассимиляции:

- а) метод анализа жизнеспособности (общая и индивидуальная плодовитость, частота встречаемости эмбриональных и постэмбриональных леталей);

- б) метод анализа морфологической изменчивости крыла дрозофилы;

- 5) для изучения онтогенетической и генотипической адаптации у *Drosophila melanogaster* использовать влияние стресса химической природы на примере аминоптерина;

6) для изучения онтогенетической и генотипической адаптации у *Drosophila melanogaster* использовать влияние стресса физической природы на примере рентген-облучения;

7) в ходе генетической ассимиляции в линиях, гетерозиготных по гену *vestigial*, установить наличие взаимодействия на молекулярном уровне продуктов генов *vestigial* и *scalloped*, фенотипическим проявлением которого является обнаружение спонтанной рецессивной мутации *scalloped* (*sd*).

8) проанализировав полученный экспериментальный материал, установить источники, лежащие в основе генетической ассимиляции на молекулярном уровне.

Результаты данного исследования позволят предложить новую биологическую модельную тест-систему для исследования последствий влияния препаратов, использующихся в терапии рака. Кроме того, итоги научных исследований на 2 этапе НИР внесут вклад в представления о возможности проявления генетической ассимиляции в виде направленной наследственной изменчивости в пределах функционально связанных генов. Данная гипотеза будет сформулирована и обоснована в ходе выполнения 2 этапа НИР.

Полученные нами данные позволят предоставить более конкретные представления о механизмах возможных отдалённых генетических последствиях длительного воздействия различных факторов антропогенной природы. А следовательно, дать научно-обоснованные рекомендации природоохранным организациям и органам здравоохранения.

Планируются публикации результатов НИР в журналах ВАК и материалах всероссийских и международных конференций со ссылкой на проведение НИР в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы.

Кроме того, данная работа позволит внести некоторую ясность в представления о взаимосвязи наследственной и ненаследственной изменчивостью, а следовательно, в представления о роли возможного вклада каждой типа изменчивости в эволюционный процесс.

1. Аннотированная справка по научным результатам НИР, полученным на I этапе.

На 1 этапе выполнения Государственного контракта № П1709 "Молекулярно-генетические основы онтогенетической и генотипической адаптации у *Drosophila melanogaster*" (шифр "НК-366П") от 23 сентября 2009 по направлению "Физико-химическая молекулярная и клеточная биология" в рамках мероприятия 1.3.2 "Проведение научных исследований целевыми аспирантами", нами исследовались механизмы генотипической и онтогенетической адаптации у *Drosophila melanogaster*. Явление генотипической адаптации (генетической ассимиляции) занимает очень важное место в разработке представлений о роли наследственной и ненаследственной (онтогенетической) изменчивости и возможной связи между этими двумя понятиями. В настоящее время, судя по литературным данным, общепринято считать, что нет чёткой границы между наследственной и ненаследственной изменчивостью, и в основе этих явлений могут лежать общие молекулярные механизмы. В ряде работ обсуждается возможность существования направленной наследственной изменчивости не только у прокариот, но и у эукариот, что имеет важное не только теоретическое, но и практическое значение. Конкретные механизмы, лежащие в основе генетической ассимиляции, до сих пор не вполне ясны, особенно на молекулярном уровне. Поэтому в качестве удобного косвенного показателя при изучении данного явления на 1 этапе НИР мы использовали частоту встречаемости повреждений крыла дрозофилы и комплексный анализ жизнеспособности. Онтогенетическая адаптация проявляется у организмов в результате реакции на воздействие стрессовых факторов. Поэтому нами будет исследован стресс химической и физической природы.

Также, изучение явления генотипической и онтогенетической адаптации с точки зрения генотипической адаптации имеет важную практическую значимость. На фоне глобального загрязнения среды, в первую очередь антропогенного происхождения, учитывая явление генетической ассимиляции (другими словами, возможность замены в организме внешних факторов воздействия внутренними, наследственно закреплёнными), возникает реальная возможность увеличения частоты возникновения генетически обусловленных патологий. При этом, особенно важное значение приобретает такой фактор, как частое применение фармакологических препаратов в медицинских целях.

Исходя из полученных предварительных результатов, можно проследить увеличение частоты встречаемости наследственно обусловленных патологий при постоянном стрессовом воздействии.

Исходя из этого, целью нашей работы на 1 этапе НИР являлась разработка удобной рабочей модели для анализа явления генотипической и онтогенетической адаптации.

В соответствии с основной целью, были поставлены и решены следующие задачи:

1 - продолжен длительный направленный отбор на частоту встречаемости повреждения крыла типа «вырезка» в ряду линий дрозофилы, несущих мутацию *vestigial* в гетерозиготном состоянии;

2 - дополнительно создан ряд линий *Drosophila melanogaster* для исследования явлений генотипической и онтогенетической адаптации;

3 - созданные линии применены для достижения цели исследования, используя анализ частоты встречаемости повреждения крыла типа «вырезка» и комплексный анализ жизнеспособности на различных стадиях онтогенеза

4 - усовершенствован метод анализа жизнеспособности (общая и индивидуальная плодовитость, частота встречаемости эмбриональных и постэмбриональных леталей) для оценки результатов генетической ассимиляции.

5 - в ходе генетической ассимиляции в линиях, гетерозиготных по гену *vestigial*, косвенно установлено наличие взаимодействия на молекулярном уровне продуктов генов *vestigial* и *scalloped*, фенотипическим проявлением которого является обнаружение спонтанной рецессивной мутации *scalloped* (*sd*).

В частности, на 1 этапе НИР, в соответствии с заявленной проблемой «Молекулярно-генетические основы онтогенетической и генотипической адаптации у *Drosophila melanogaster*», был составлен обзор литературы, охватывающий два аспекта: «Генетическая ассимиляция в ходе отбора» и «Роль стрессов различной природы в создании наследственной изменчивости», а также аналитический обзор.

Экспериментально продемонстрирована реальная возможность использования длительного направленного отбора как источника создания наследственной изменчивости при изучении механизмов генотипической адаптации.

Создан ряд новых межлинейных гибридов дрозофилы, гетерозиготных по гену *vestigial* для конкретизации процессов, лежащих в основе генетической ассимиляции, для последующих исследований на 2 этапе НИР.

Усовершенствованы методы оценки показателей жизнеспособности за счёт введения нового показателя - средней средней индивидуальной плодовитости.

Также разработана и апробирована методика количественной оценки неоплодотворённых яиц и ранних эмбриональных леталей («Метод распознавания неоплодотворённых яиц среди РЭЛ»).

Произведённый анализ литературных данных позволил сделать вывод о том, что цитостатики, в частности, аминоптерин, могут быть использованы при изучении онтогенетической адаптации с использованием разработанных нами методов.

Учитывая то, что дрозофила входит в число модельных систем для мониторинга антропогенных экологических факторов, оценка жизнеспособности, с учётом наших дополнений, позволяет наиболее полно выполнять эту задачу.

Кроме того, исследования, проведённые на 1 этапе НИР, позволяют сделать вывод о том, что предложенная нами методика изучения генотипической и онтогенетической адаптации является универсальной. В основе этой методики лежит оценка частоты встречаемости повреждения крыла типа «вырезка», являющегося результатом апоптоза в ходе развития дорзального мезоторакального диска дрозофилы.

Что касается области практического применения научных результатов 1 этапа НИР, то итоги наших теоретических и экспериментальных исследований генотипической адаптации, послужат основой для создания тест-систем (линий дрозофилы) для изучения действия противораковых препаратов в плане их эффекта на цитологическом уровне.

Полученные данные могут послужить определённым вкладом в представления о механизмах возможных отдалённых генетических последствиях длительного воздействия различных факторов антропогенной природы. А следовательно, дать научно-обоснованные рекомендации природоохранным организациям и органам здравоохранения.

Кроме того, данная работа позволяет внести некоторую ясность в представления о взаимосвязи наследственной и ненаследственной изменчивостью, а, следовательно, в представления о роли возможного вклада каждой типа изменчивости в эволюционный процесс.

В ходе выполнения работ по 1 этапу НИР, был усовершенствован разработанный нами метод комплексного анализа жизнеспособности *Drosophila melanogaster* (анализируется общая и индивидуальная плодовитость, частота встречаемости эмбриональных и постэмбриональных леталей); а также метод количественной оценки неоплодотворённых яиц и ранних эмбриональных леталей. Соответственно подготовлена заявка на изобретение перечисленных методов.

Результаты 1 этапа НИР представлены нами в виде доклада по теме «Длительный направленный отбор как источник наследственной изменчивости» на международной научной конференции «Чарльз Дарвин и современная биология», которая проходила в г.Санкт-Петербурге 21-23 сентября 2009 г., по материалам конференции опубликованы тезисы в сборнике «Чарльз Дарвин и современная наука».

2. Аналитический отчет о проведении экспериментальных исследований.

2.1. Сведения об исследуемой проблеме

Тема изучаемой нами проблемы - «Молекулярно-генетические основы онтогенетической и генотипической адаптации у *Drosophila melanogaster*».

Объектом данных исследований является ряд линий *Drosophila melanogaster*, как дикого типа, так и полученные в лаборатории для исследования явления генетической ассимиляции и влияния стрессов химической и физической природы.

По характеру наша работа является научно-исследовательской.

Цель настоящего исследования:

- разработка удобных рабочих моделей для анализа явления генотипической и онтогенетической адаптации;

В соответствии с основной целью, нами были поставлены следующие задачи:

1) продолжить длительный направленный отбор на частоту встречаемости повреждения крыла типа «вырезка» в ряду линий дрозофилы, несущих мутацию *vestigial* в гетерозиготном состоянии;

2) дополнительно создать ряд линий *Drosophila melanogaster* для исследования явлений генотипической и онтогенетической адаптации;

3) применить созданные линии для достижения цели исследования, используя анализ частоты встречаемости повреждения крыла типа «вырезка», комплексный анализ жизнеспособности и анализ морфологической изменчивости крыла на различных стадиях онтогенеза

4) усовершенствовать метод анализа морфологической изменчивости крыла дрозофилы;

5) для изучения онтогенетической и генотипической адаптации у *Drosophila melanogaster* использовать влияние стресса химической природы на примере аминоптерина;

6) для изучения онтогенетической и генотипической адаптации у *Drosophila melanogaster* использовать влияние стресса физической природы на примере рентген-облучения;

7) в ходе генетической ассимиляции в линиях, гетерозиготных по гену *vestigial*, установить наличие взаимодействия на молекулярном уровне продуктов генов *vestigial* и *scalloped*, фенотипическим проявлением которого является обнаружение спонтанной рецессивной мутации *scalloped* (*sd*).

8) проанализировав полученный экспериментальный материал, установить источники, лежащие в основе генетической ассимиляции на молекулярном уровне.

Вопрос об источниках наследственной изменчивости и творческой роли отбора неизменно занимает важное место в эволюционном учении на протяжении всей его истории. Одним из важнейших следствий физиологической гипотезы мутационного процесса, выдвинутой Михаилом Ефимовичем Лобашевым в 1947 году, является тезис о зависимости уровня генетической изменчивости от направления отбора и степени адаптации селектируемых линий повреждающим фактором среды. Согласно этой гипотезе, чем меньше организм приспособлен к тем или иным факторам среды, действующим на него, тем эффективнее эти факторы индуцируют процесс мутационных изменений, а «изменение направления отбора или ускорение направления его темпов одновременно сопровождается обязательным повышением темпов мутационной изменчивости» (Лобашев М.Е.). Справедливость подобных утверждений неоднократно подтверждалась в ходе экспериментов по длительному направленному отбору, в том числе и на дрозофиле. Данная работа посвящена изучению генетических последствий длительного направленного отбора и источников генетической изменчивости в инбредных линиях дрозофилы, селектируемых на частоту встречаемости повреждения крыла «типа вырезка». Поскольку согласно литературным данным в основе повреждений крыла дрозофилы «типа вырезка» лежит явление апоптоза (запрограммированной гибели клеток) взятый за основу селекционной работы признак имеет сложную молекулярно-генетическую природу. Исходя из этого, можно высказать предположение, что когда речь идет о направленном отборе, то по сути дела, речь идет о так называемом, «генетическом поиске» на уровне процессов, обуславливающих апоптоз.

2.2. Описание методов выполнения работы

2.2.1. Метод длительного направленного отбора

Длительный направленный отбор использовался в качестве источника генетической изменчивости и, следовательно, являлся эффективным способом изучения явления генетической ассимиляции.

В качестве показателя изменений биохимических процессов на фенотипическом уровне в ходе длительного направленного отбора был выбран признак - повреждение крыла типа «вырезка» (в соответствии с рисунком 1). «Вырезка» на крыле у дрозофилы, согласно цитологическим исследованиям, является косвенным свидетельством гибели клеток. Согласно гистохимическим и электронно-микроскопическим исследованиям, в данном случае в основе гибели клеток лежит явление апоптоза [1]. К тому же, мутация гена *vestigial* приводит к снижению экспрессии дигидрофолатредуктазы, отвечающей за выживание клеток [2].

Длительный направленный отбор производился в плюс направлении в линиях:

- 1) ♀ Судак : ♂vg (до F36)
- 2) ♀ vg : ♂Oregon R (до F30)
- 3) ♀Крым : ♂vg (до F20)
- 4) ♀БИОС III : ♂vg (до F20)
- 5) ♀Белгород : ♂vg (до F20)
- 6) ♀МММ : ♂vg (до F6)
- 7) ♀Host : ♂vg (до F36)
- 8) ♀vg : ♂Canton S (до F36)
- 9) ♀Челябинск : ♂vg (до F6)
- 10) ♀Canton S: ♂Barvg (до F24)
- 11) ♀Canton S: ♂vg (до F25)



Рисунок 1 - Проведение длительного направленного отбора в линиях, гетерозиготных по мутации *vestigial*, на повреждение крыла типа "вырезка".

1.2.2. Метод подсчёта частоты встречаемости повреждения крыла типа «вырезка»

В качестве показателя изменений биохимических процессов на фенотипическом уровне в ходе длительного направленного отбора было выбрано повреждение крыла типа «вырезка». Так как вырезка на крыле у дрозофилы, согласно цитологическим исследованиям, является косвенным свидетельством гибели клеток. Согласно гистохимическим и электронно-микроскопическим исследованиям, в данном случае в основе гибели клеток лежит явление апоптоза [1]. Данный метод позволяет используя дорзальный мезоторакальный диск, создать модельную систему, для изучения

эффективности рентген- и химиотерапии на с точки зрения устойчивости клеток к апоптозу.

2.2.3. Метод изучения морфометрической изменчивости крыла

Для изучения морфометрии крыло изучаемой линии с учетом половых различий подвергалось следующей обработке: с помощью бинокулярного микроскопа МБС 10 (окуляр 10 x 14), оснащённый фотокамерой Nikon COOLPIX E4500 (zoom 7,85 x 32 mm; 1,26 – 5.1), в капле спирта крылья отпрепаровывались, фиксировались на предметном стекле, после чего с них получали цифровое изображение. С помощью программы Desktop Ruller снимались необходимые промеры. Всего их 18, а также общая площадь и площади отдельных ячеек крыла. Данная информация переносилась в таблицы, а затем статистически обрабатывалась и анализировалась с помощью пакета программ Statistica 6.

Также крылья экспериментальных особей изучались на предмет местоположения повреждения типа «вырезка». Соответственно, было выделено 9 видов локализации повреждения, или «морф».

2.2.4. Методы рентген и гамма облучения личинок дрозофилы

Рентгеновское облучение осуществлялось аппаратом "РЕНТГЕН-ТА" при соблюдении следующего режима: D (экспозиционная доза) = 500, 1000, 3000 и 6000 P; U = 100 кВ; I = 10 мА; Фильтр – 1,6 мм; X (мощность экспозиционной дозы) = 1064 P/мин; t = 170сек (с двух противоположных полей); Ф (диаметр тубуса) = 40 мм; РИП = 100см.

Облучение гамма-излучением осуществлялось аппаратом " АГАТ-С" при соблюдении следующего режима: D=3000 Рентген; РИК=75 см; t= 1350 сек. В опытах с радиоактивной меткой С14-лейцин и С14-валин использовалась доза 2 МБк.

2.2.5. Метод секвенирования фрагментов ДНК по P. Senger

ДНК дрозофилы выделяли методом, предложенным Бендером с соавторами (1983).

Праймеры подбирали к последовательностям интронов гена sd, таким образом, чтобы амплификаты включали последовательности одного или группы экзонов.

ПЦР проводили в объеме 50 мкл. Реакционная смесь включала в себя 10 нг ДНК, по 5 пикомолей праймеров, 5 наномолей каждого их нуклеотидов, 2,5 единицы активности Taq полимеразы («Бигль») и буфер, рекомендованный фирмой производителем.

Амплификацию осуществляли по программе: 93°C – минут, далее 35 циклов (93 °C – 15 секунд, 55 °C – 30 секунд, 72 °C – 30 секунд), далее 72 °C – 5 минут.

Продукты разделяли в 1% агарозном геле на буфере ТБЕ. Фрагменты ожидаемой длины вырезали и чистили фильтрацией через стекловату, а затем переосаждали. Очищенные фрагменты клонировали в вектор pJet 1.2 («Fermentas») по протоколу фирмы производителя. Трансформацию E.coli проводили химическим методом.

Плазмидную ДНК из бактериальных культур выделяли щелочным лизисом (Birnboim, Doly, 1979) .

Секвенирование фрагментов осуществляли при помощи автоматического секвенатора ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) с использованием набора DYEnamic™ ET Terminator Cycle Sequencing Kit. Количество независимых сиквенсов для каждого из фрагментов составляло не менее 2-х.

Выравнивание последовательностей осуществляли при помощи программ, имеющихся в свободном доступе в сети «Интернет».

2.3. Выбор обоснованного варианта направления исследования

Для выполнения основной цели нашей работы необходимо провести следующие исследования:

- 1) продолжить длительный направленный отбор на частоту встречаемости повреждения крыла типа «вырезка» в ряду линий дрозофилы, несущих мутацию vestigial в гетерозиготном состоянии;
- 2) дополнительно создать ряд линий *Drosophila melanogaster* для исследования явлений генотипической и онтогенетической адаптации;
- 3) применить созданные линии для достижения цели исследования, используя анализ частоты встречаемости повреждения крыла типа «вырезка», комплексный анализ жизнеспособности и анализ морфологической изменчивости крыла на различных стадиях онтогенеза
- 4) усовершенствовать следующие метод анализа морфологической изменчивости крыла дрозофилы;
- 5) для изучения онтогенетической и генотипической адаптации у *Drosophila melanogaster* использовать влияние стресса химической природы на примере аминоптерина;
- 6) для изучения онтогенетической и генотипической адаптации у *Drosophila melanogaster* использовать влияние стресса физической природы на примере рентген-облучения;
- 7) в ходе генетической ассимиляции в линиях, гетерозиготных по гену vestigial, установить наличие взаимодействия на молекулярном уровне продуктов генов vestigial и scalloped, фенотипическим проявлением которого является обнаружение спонтанной рецессивной мутации scalloped (sd).
- 8) проанализировав полученный экспериментальный материал, установить источники, лежащие в основе генетической ассимиляции на молекулярном уровне.

Предполагаемые методы для проведения вышеперечисленных исследований:

При изучении онтогенетической и генотипической адаптации мы используем следующие методы, позволяющие дать количественную и качественную характеристику изучаемых явлений:

- длительный направленный отбор у межлинейных гибридов дрозофилы;
- анализ частоты появления повреждения крыла типа «вырезка», в основе которого лежит явление апоптоза;

- морфометрический анализ крыла с использованием 24-х параметров;

Генетическая ассимиляция возможна только в условиях длительного направленного отбора, поэтому наши основные линии дрозофилы к настоящему времени претерпели 300-400 поколений отбора.

Экспрессивность и пенетрантность повреждений крыла типа «вырезка» в значительной мере обусловлена как генетическими факторами, так и интенсивностью внешнего стрессового воздействия. Поэтому сохранение данного повреждения у последующих поколений свидетельствует о наследственном закреплении изменений.

В ряде случаев гибель клеток в заданном районе не сопровождается появлением вырезки на крыле, однако нарушает процессы дифференцировки крыла. Поэтому мы используем морфометрический анализ крыла, который позволяет обнаружить эти нарушения.

Изменения генотипической среды, которые возникают в ходе генетической ассимиляции, тесно связаны с функционированием репродуктивной системы дрозофилы и оказывают влияние на такие показатели полигенной природы, как плодовитость, частота встречаемости доминантных эмбриональных и постэмбриональных леталей (генотоксический эффект).

Экспериментальное оборудование:

На 1 этапе НИР мы использовали микроскоп Leica CTR 5000, компьютеры уровня не ниже Intel Pentium IV, лицензионное программное обеспечение компании Microsoft.

На 2 этапе НИР дополнительно использовались весы электронные аналитические AUX-320, аминокперин (как источник химического стресса), рентген облучение (как источник стресса физической природы). Рентген-облучение планируется проводить в Свердловском областном научно-практическом центре «Онкология» с помощью аппарата «РЕНТГЕН-ТА». Для молекулярного анализа последовательности локуса *scalloped* использовался секвенатор ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA).

Ожидаемые научные результаты

Результаты 1 этапа НИР планировалось представить в виде доклада по теме «Длительный направленный отбор как источник наследственной изменчивости» на международной научной конференции «Чарльз Дарвин и современная биология», которая проходила в г.Санкт-Петербурге 21-23 сентября 2009 г., по материалам конференции опубликованы тезисы в сборнике «Чарльз Дарвин и современная наука», что и было выполнено.

Результаты 2 этапа НИР планировалось представить в форме подготовки материалов публикации в ведущем научном журнале, патента на изобретение нового метода

распознавания неоплодотворённых яиц среди РЭЛ (ноу-хау - метод распознавания неоплодотворённых яиц среди ранних эмбриональных леталей), гипотезы о существовании механизмов, лежащих в основе направленной наследственной изменчивости и селекционного достижения (создания линий дрозофилы, которые могут быть использованы в качестве биологической тест-системы для исследования последствий влияния стресса химической и физической природы). Соответственно, была подготовлена публикация в журнал "Аграрный вестник Урала", рекомендованный ВАК (рукопись будет опубликована в №8(74), август 2010), было принято участие в 2-х международных и 2-х всероссийских конференциях с публикацией статей и тезисов. Также оформлена заявка на изобретение метода комплексной оценки жизнеспособности дрозофилы и метода определения неоплодотворённых яиц дрозофилы, заявка на патент №2010119469 от 14.05.2010.

2.4. План проведения экспериментальных исследований

На 1 этапе НИР был выполнен план следующих экспериментальных исследований:

1. Обзор литературы по тематике выбранной проблемы в период с 2000 по 2009 гг. в двух аспектах: «Генетическая ассимиляция в ходе отбора» и «Роль стрессов различной природы в создании наследственной изменчивости», составление аналитического обзора.

С 23.09.2009 по 20.11.2009.

2. Продолжить создание и применение рабочих моделей (линий *Drosophila melanogaster*) для изучения явления генетической ассимиляции (генотипической адаптации) у *Drosophila melanogaster*. В качестве главного показателя пригодности модели взять частоту встречаемости повреждения крыла типа «вырезка» (результат апоптоза).

С 30.09.2009 по 01.12.2009.

3. Усовершенствование методов оценки результатов генетической ассимиляции на уровне показателей жизнеспособности (общая и индивидуальная плодовитость, частота встречаемости эмбриональных и постэмбриональных леталей).

Разработать методику количественной оценки неоплодотворённых яиц и ранних эмбриональных леталей.

С 15.10.2009 по 14.12.2009.

4. Подбор подходящей для целей исследования программной обработки.

С 01.11.2009 по 15.12.2009

На 2 этапе НИР был выполнен следующий план проведения экспериментальных исследований, соответственно обоснованию в разделе 4.4.:

1. Усовершенствование методов оценки результатов генетической ассимиляции на уровне морфологической изменчивости крыла на различных стадиях онтогенеза

Переход на более современные методы анализа морфометрии крыла, а именно: аналитическую и статистическую обработку цифровых фотографий крыла, при этом не прекращая использовать стандартную методику анализа морфометрии – для возможности их сопоставления.

С 01.01.2010 по 15.03.2010.

2. Осуществлено создание и применение рабочих моделей (линий *Drosophila melanogaster*) для изучения влияния стрессов химической и физической природы как источников наследственной изменчивости в ходе генетической ассимиляции. В качестве главного показателя пригодности модели взять частоту встречаемости повреждения крыла типа «вырезка» (результат апоптоза).

С 25.01.2010 по 12.04.2010.

3. В ходе генетической ассимиляции в линиях, гетерозиготных по гену vestigial, установлено наличие взаимодействия на молекулярном уровне продуктов генов vestigial и scalloped, фенотипическим проявлением которого является обнаружение спонтанной рецессивной мутации scalloped (sd).

С 01.03.2010 по 15.06.2010.

4. В ходе создания межлинейных гибридов от скрещивания линий дикого типа на vestigial, обнаружено явление скрытой наследственной изменчивости.

С 10.03.2010 по 30.06.2010.

5. Проанализировав полученный экспериментальный материал, установлены возможные источники, лежащие в основе генетической ассимиляции на молекулярном уровне.

С 01.07.2010 по 20.08.2010.

6. Произведён анализ и обобщение полученных экспериментальных и теоретических результатов исследований, оценка полноты решения задач и сопоставление данных с современным научно-техническим уровнем по направлению «Физико-химическая молекулярная и клеточная биология». Составлен научный отчет.

Подготовлена 1 публикация в ведущий научный журнал, 1 публикация во всероссийской конференции, материалы которой принимаются ВАК, 2 публикации в материалах международных конференций и тезисы во всероссийском конгрессе со ссылкой на проведение НИР в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы. С 21.08.2010 по 14.09.2010.

Представлены следующие научные результаты:

- селекционное достижение (созданы линии дрозофилы, которые могут быть использованы в качестве биологической тест-системы для исследования последствий влияния стресса химической и физической природы);

- гипотеза (о существовании механизмов, лежащих в основе направленной наследственной изменчивости);

- изобретение (метод комплексной оценки жизнеспособности дрозофилы и метод определения неоплодотворённых яиц дрозофилы, заявка на патент №2010119469 от 14.05.2010).

Результаты 1 этапа НИР представлены нами в виде доклада по теме «Длительный направленный отбор как источник наследственной изменчивости» на международной научной конференции «Чарльз Дарвин и современная биология», которая проходила в

г.Санкт-Петербурге 21-23 сентября 2009 г., по материалам конференции опубликованы тезисы в сборнике «Чарльз Дарвин и современная наука».

Результаты 2 этапа НИР представлены в форме подготовленных материалов к 1 публикации в ведущем научном журнале (Аграрный вестник Урала, рукопись будет опубликована в №8(74), август 2010), 1 публикации во всероссийской конференции, материалы которой принимаются ВАК, 2-х публикаций в материалах международных конференций и тезисов во всероссийском конгрессе со ссылкой на проведение НИР в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы.; оформлена заявка на изобретение метода комплексной оценки жизнеспособности дрозофилы и метода определения неоплодотворённых яиц дрозофилы (заявка на патент №2010119469 от 14.05.2010).

План проведения исследований был рассмотрен на учёном совете, результаты проведения исследований в рамках НИР одобрены учёным советом.

С 21.08.2010 по 14.09.2010

2.5. Результаты экспериментальных исследований

2.5.1. Усовершенствование методов оценки результатов генетической ассимиляции на уровне морфологической изменчивости крыла на различных стадиях онтогенеза.

В данной части работ по 2 этапу выполнения НИР производилась разработка методики аналитической и статистической обработки цифровых фотографий крыла дрозофилы. В основе данной методике были сохранены стандартные 24 морфометрических показателя крыла (в соответствии с рисунками 2 и 3). Методика целиком разработана в лаборатории экологической генетики УрГУ.

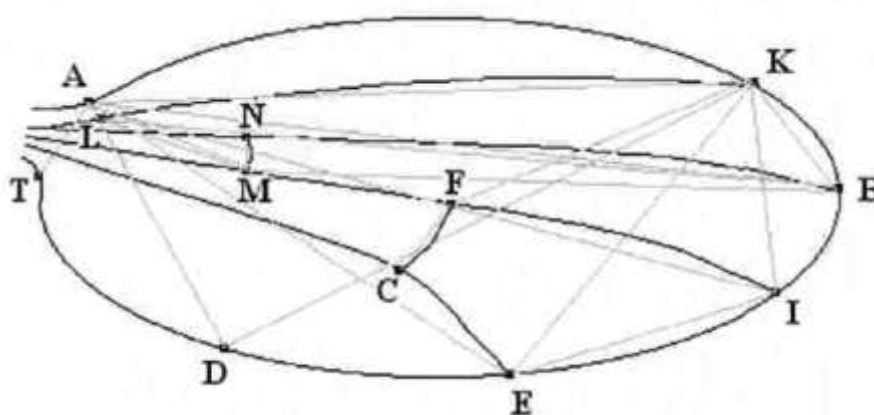


Рисунок 2 - Линейные промеры крыловой пластинки *D. melanogaster*

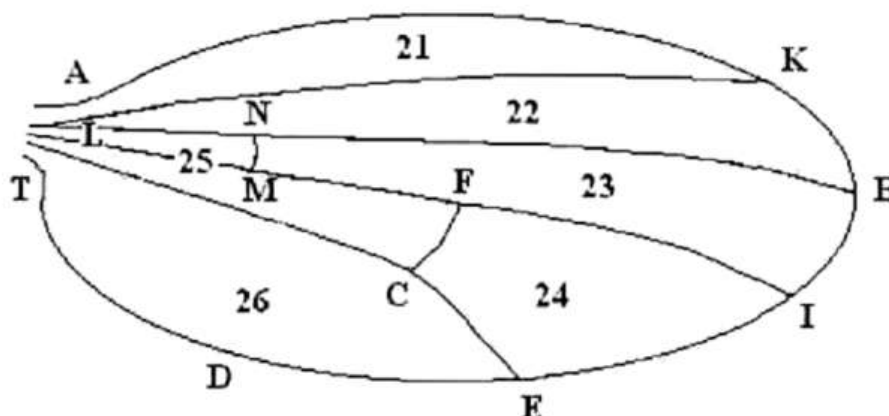


Рисунок 2 - Ячейки крыловой пластинки *D. melanogaster*

21- маргинальная; 22- субмаргинальная; 23- 1-я задняя; 24- 2-я задняя; 25 - базальная и дискоидальная; 26- 3-я задняя.

Препарации левого и правого крыла специализированными иглами подвергались обездвиженные особи *Drosophila melanogaster*.

Необходимые для анализа измерения длин между различными точками поверхности крыла, а также площадей отдельных ячеей крыла осуществлялись компьютерными программами, входящими в пакет доступных подразделениям ГОУ ВПО УрГУ (в соответствии с рисунками 4, 5, 6).



Рисунок 4 - Фото изображение крыла дрозофилы.

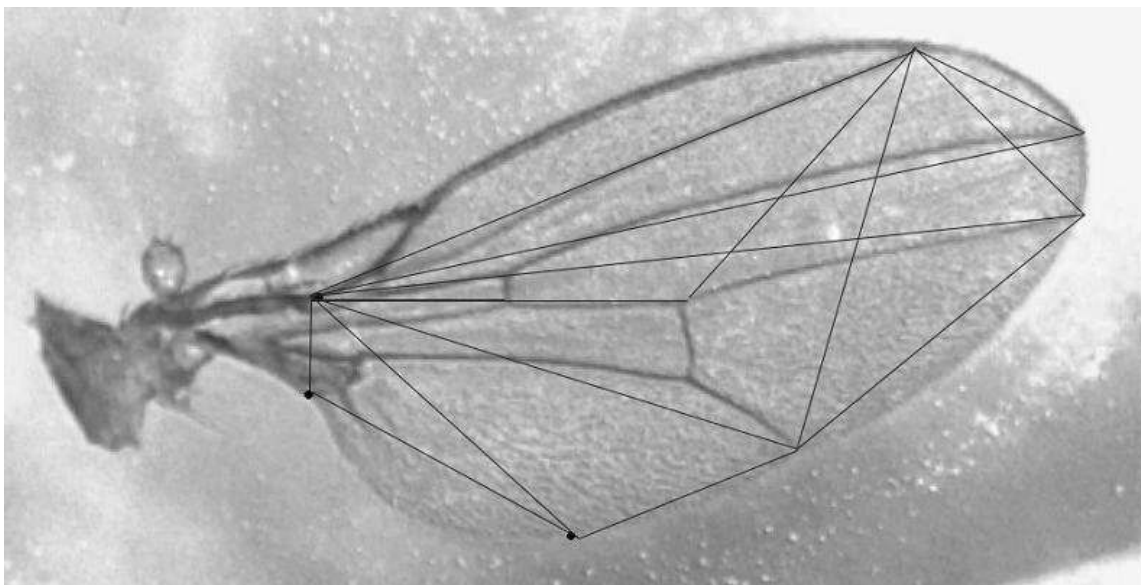


Рисунок 5 - Измерение длин между различными опорными точками поверхности крыла дрозофилы.

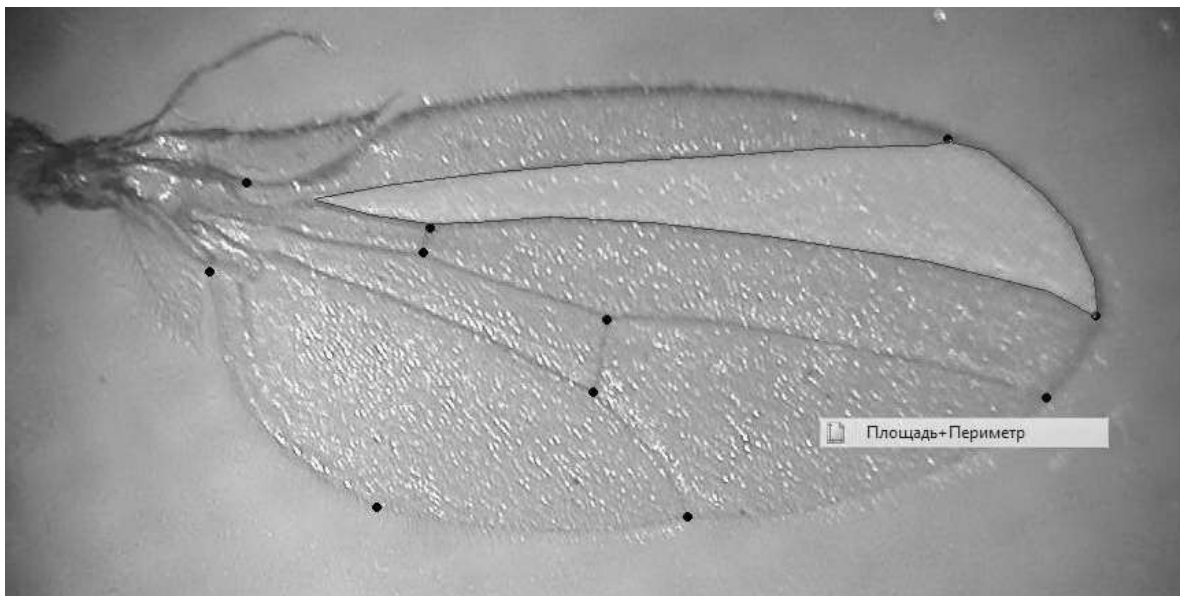


Рисунок 6 - Измерение площади отдельной ячей крыла дрозофилы.

Цифровые данные, полученные в результате вышеуказанных измерений, помещались в таблицы морфометрических промеров и обрабатывались в пакетах программ STATISTICA и MATLAB. На рисунке 7 приведён пример графического представления канонического анализа рядов данных.

Для сравнения с прежней методикой морфометрического анализа, осуществлявшейся без обработки цифровых снимков крыла, был выведен коэффициент, позволяющий оперировать при работе как данными предыдущих исследований, так и полученными с применением нового подхода.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	left		1	2	3	4	5	6
2	1	AK	1.566092	1.646552	1.779503	1.748428	1.604046	1.523121
3	2	AB	1.873563	1.925287	2.18323	2.128931	1.971098	1.907514
4	3	AI	1.824713	1.864943	2.114907	2.053459	1.907514	1.849711
5	4	AE	1.247126	1.278736	1.444099	1.418239	1.303468	1.236994
6	5	AD	0.718391	0.752874	0.86646	0.77044	0.809249	0.708092
7	6	AT	0.189655	0.204023	0.201863	0.210692	0.231214	0.225434
8	7	AM	0.439655	0.505747	0.503106	0.509434	0.459538	0.421965
9	8	LM	0.393678	0.433908	0.39441	0.433962	0.419075	0.367052
10	9	LB	1.853448	1.902299	2.090062	2.066038	1.933526	1.855491
11	10	MB	1.465517	1.433908	1.68323	1.628931	1.523121	1.485549
12	11	KB	0.45977	0.373563	0.512422	0.531447	0.514451	0.526012
13	12	KI	0.560345	0.456897	0.60559	0.632075	0.615607	0.618497
14	13	KE	0.942529	0.925287	1.055901	1.059748	1.034682	0.950867
15	14	KD	1.454023	1.525862	1.677019	1.698113	1.560694	1.508671
16	15	KF	0.79023	0.827586	0.841615	0.877358	0.846821	0.783237
17	16	IE	0.787356	0.824713	0.928571	0.893082	0.84104	0.815029
18	17	FC	0.16954	0.175287	0.226708	0.204403	0.190751	0.16474
19	18	MN	0.048851	0.043103	0.055901	0.075472	0.066474	0.049133
20	19	21	0.149136	0.169127	0.220082	0.203176	0.160806	0.142963
21	20	22	0.2455	0.167443	0.247772	0.288487	0.27313	0.267316
22	21	23	0.251569	0.243477	0.369421	0.327281	0.293378	0.28743
23	22	24	0.13827	0.148269	0.174521	0.186029	0.172425	0.156003
24	23	25	0.242965	0.269644	0.355648	0.319123	0.296143	0.275335
25	24	26	0.385429	0.397344	0.515759	0.477809	0.432114	0.406971

Рисунок 7 - Часть таблицы, включающей данные, полученные в ходе усовершенствования методики аналитической и статистической обработки цифровых фотографий крыла дрозофилы (единица измерения – 1 мм, показаны данные для левого крыла 6 особей, всего в анализе используется 25 особей, левое и правое крыло для каждой).

Дополненный в ходе данного исследования метод, является достаточно чувствительным, позволяет выявлять наиболее изменчивые морфометрические показатели, степень отличия выборок мух, в зависимости от силы влияния на них определённого фактора - химической, физической природы, а также отбора (в соответствии с рисунком 8 и 10).

Метод позволяет сравнивать экспериментальные данные по нужным исследователю параметрам – в зависимости от линии экспериментального материала, от поколения, от пола, определять разницу в изменениях соотношений по линейным и двумерным характеристикам крыла, анализировать степень изменения в дистальной (более новой) и базальной (древней) частях крыла дрозофилы, так как есть возможность сравнения по отдельным группам параметров (в соответствии с рисунком 9).

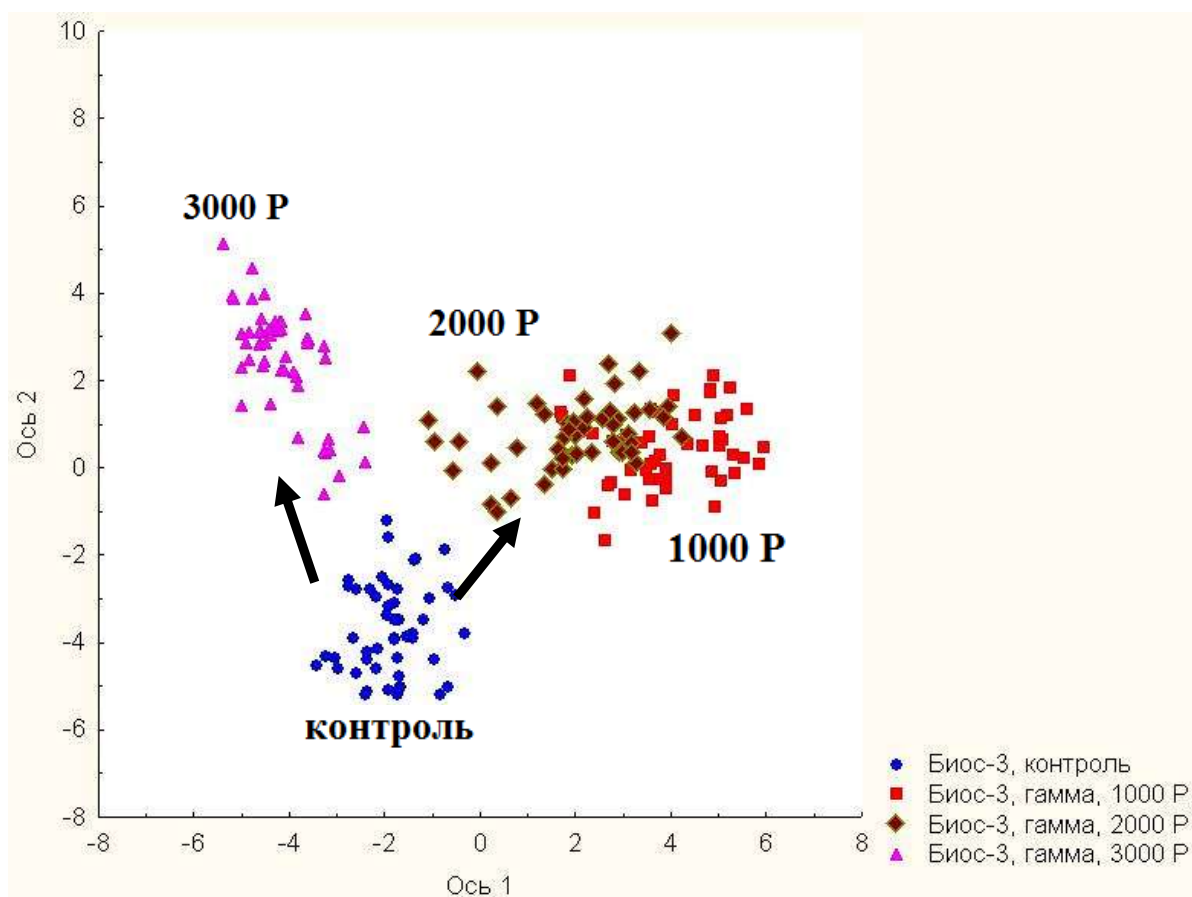


Рисунок 8 - Графическое представление анализа морфометрических показателей крыла выборок линии «Биос-3» *Drosophila melanogaster*, полученных в условиях гамма облучения (канонический анализ). Заметно разделение выборок в зависимости от дозы облучения.

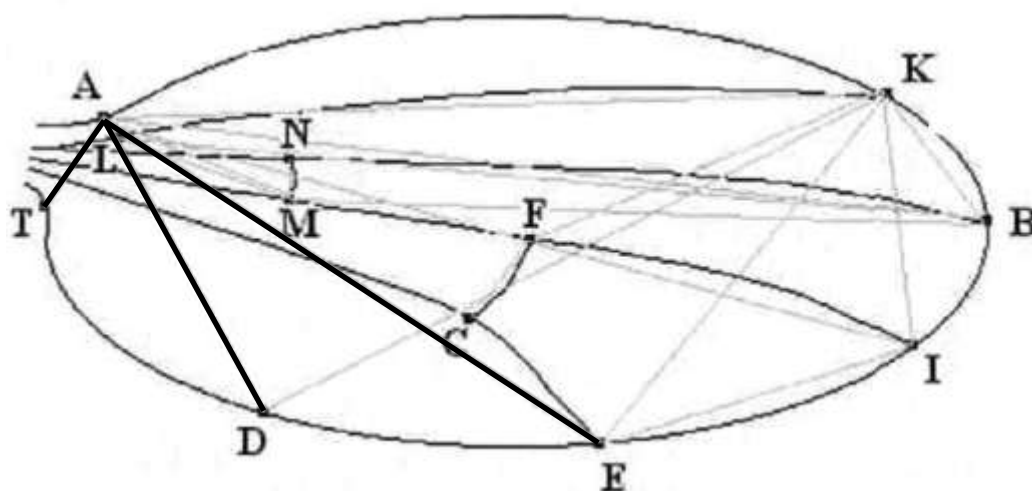


Рисунок 9 - Морфометрические параметры крыла, включение которых в анализ не позволяет обнаружить различия по дозам гамма облучения в линии дикого типа «Биос-3» (AT, AD, AE).

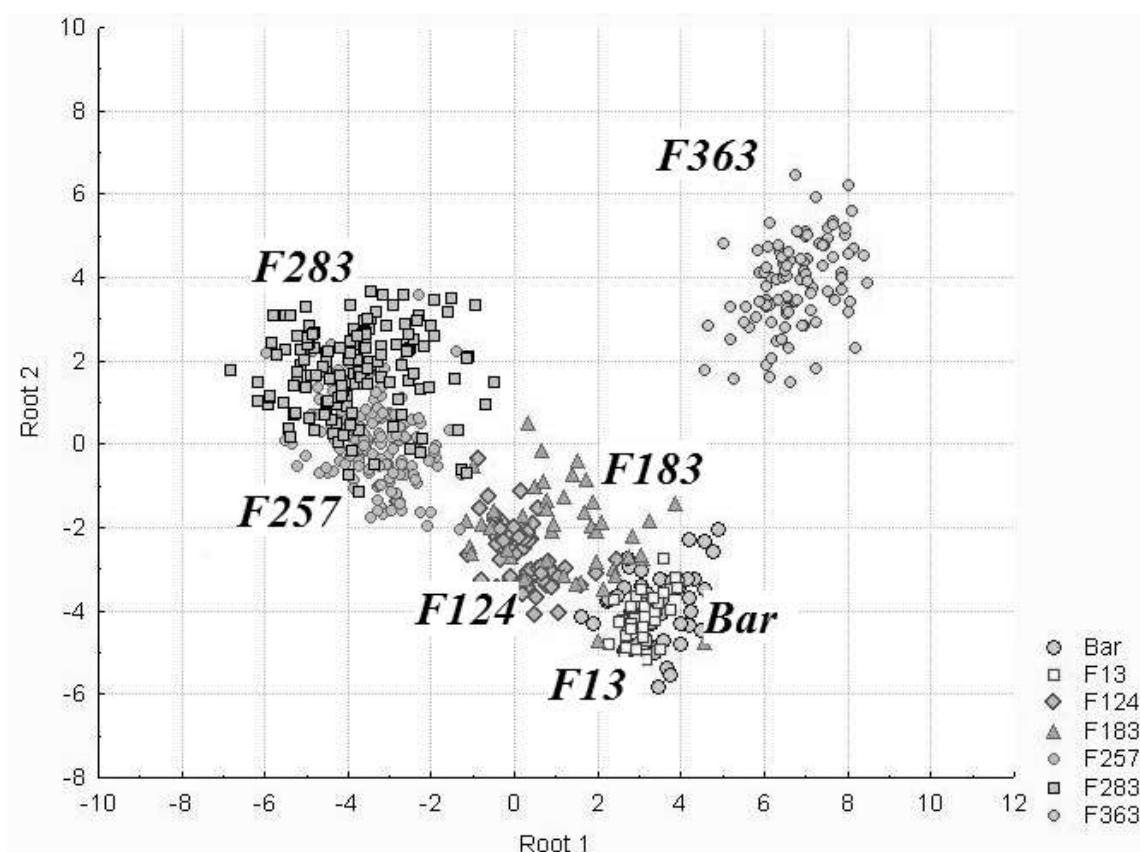


Рисунок 10 - Графическое представление ряда данных, полученных при анализе 24-х морфометрических показателей крыла выборок особей, претерпевших длительный направленный отбор. Возможно проследить динамику изменений морфометрических соотношений поверхности крыла относительно начала и конца эксперимента (13-е и 363-е поколение).

Использование 24-х параметров и общей площади крыла позволяет комплексно охарактеризовать морфометрические изменения в крыле, что, в свою очередь, является последствием совместного действия процессов апоптоза, регуляции площади клеток крыла, задержек или ускорений в развитии крыла на различных стадиях онтогенеза.

2.5.2. Создание и применение рабочих моделей (линий *Drosophila melanogaster*) для изучения влияния стрессов химической и физической природы как источников наследственной изменчивости в ходе генетической ассимиляции.

Воздействие химического стресса

Для создания рабочих моделей, позволяющих изучать влияние стрессов химической природы как источника наследственной изменчивости в ходе генетической ассимиляции применялось воздействие цитостатика аминоптерина, до сих пор использующегося в

химиотерапии. В качестве экспериментального материала применялись линии дикого типа «Челябинск», «Белгород» и мутантные линии Bar, eyeless, rotund для сопоставления степени отличий соотношений морфометрических параметров крыла (в соответствии с рисунком 11).



Рисунок 11 - Линия дикого типа «Белгород» (слева) и мутантная линия Bar (справа).

При выращивании личинок дрозофилы на среде, содержащей аминоптерин, у вылетевших имаго можно наблюдать повреждение крыла типа "вырезка" (в соответствии с рисунком 12). Судя по нашим данным, частота встречаемости повреждения крыла у разных линий может быть различна. Все это определяется концентрацией фермента гипоксантил гуанин-фосфорибозил трансферазы (ГГФРТ), содержание которого обуславливает апоптоз клеток, что и ведет в конечном итоге к появлению вырезок на крыле. Как показали литературные данные, содержание этого фермента у разных линий различно, в том числе и у линий дикого типа. По-видимому, исходным содержанием этого фермента и определяется частота возникновения повреждения крыла в ответ на воздействие аминоптерина.

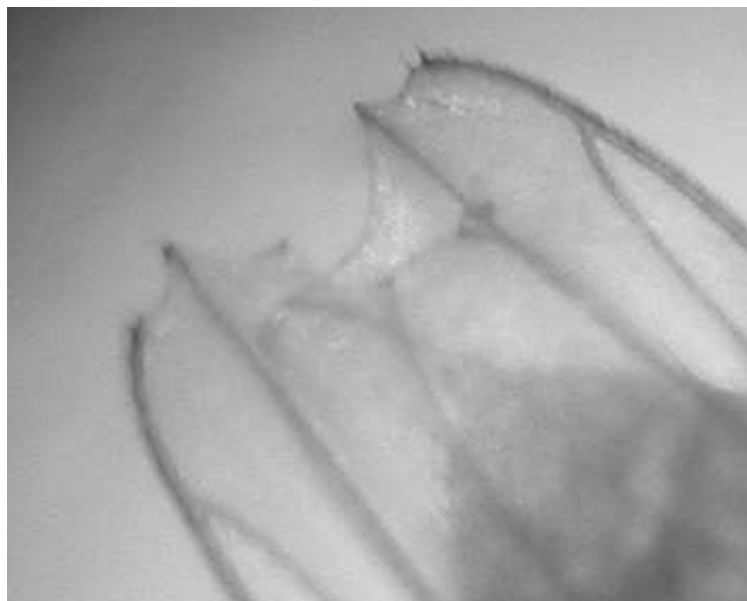


Рисунок 12 - Повреждение крыла типа «вырезка» у линии дикого типа «Белгород».

Анализ частоты повреждения крыла в ответ на действие аминоксантина показал, что линия Белгород, использованная сразу же после ее отлова в природных условиях, уже в родительском поколении, при выращивании личинок на среде, где концентрация аминоксантина составила 100 мкг/кг, выявила наиболее высокий уровень повреждения крыла, который составил 43%. К восьмому же поколению отбора, эта величина достигла 75-80%. Мутантная линия Var, исходя из наших данных, в родительском поколении также имеет сходную величину 43,5%, во втором поколении - 45%. Что касается линии дикого типа Челябинск, то частота встречаемости повреждения крыла в родительском поколении составила 36,8%.

Более низкие показатели линии Челябинск в отношении частоты встречаемости повреждения крыла, по сравнению с линией дикого типа Белгород, мы объясняем тем, что линия Челябинск к моменту опытов уже претерпела 25 поколений массового отбора в лабораторных условиях, что и привело к снижению уровня гипоксантил гуанин-фосфорибозил трансферазы.

Возникает вопрос: могут ли повреждения типа "вырезка" наследоваться в следующих поколениях? Как правило, ответ на этот вопрос отрицательный. В генетике известен принцип - хемоморфозы не наследуются. Тем не менее, в наших опытах по изучению возможности наследования хемоморфозов были получены данные, согласно которым, особи, выращенные на среде с аминоксантином и имеющие повреждение крыла, при переносе на среду без аминоксантина демонстрировали в следующем поколении, хотя и с

маленькой частотой, появление повреждения крыла, частота таких мух составила 0,4%. Интересно отметить, что в лаборатории генетики на мутантной линии Bar, также подверженной действию аминоптерина, точно также при переносе на обычную среду были обнаружены особи, демонстрирующие повреждение крыла с частотой 0,2%.

Таким образом, можно считать, что отбор на фоне аминоптерина в отношении частоты встречаемости повреждения крыла достаточно эффективен, особенно в первых поколениях опыта. Следует правда отметить, что при использовании линии дикого типа Белгород ни в одном случае не была зафиксирована возможность наследования повреждения крыла в следующем поколении в отсутствии аминоптерина. Другими словами, в ходе отбора на фоне аминоптерина можно увеличить частоту встречаемости хемоморфозов типа вырезка, однако наследование их вплоть до десятого поколения не были нами обнаружены.

Дискриминантный анализ по 24 показателям крыла с использованием линии дикого типа был осуществлен на линии дикого типа «Белгород» с использованием контроля и особей, подвергнутых на стадии личинки действию аминоптерина. Кроме того, в этих исследованиях мы использовали три мутантные линии дрозофилы, две из которых, *rotund* и *yellow cut B⁺*, оказывают существенное влияние на процессы морфогенеза крыла. Что касается мутантной линии *eyeless*, то эта мутация вызывает у мух дикого типа либо резкое сокращение числа фасет в сложном глазу дрозофилы, либо их полное отсутствие. Известно, что данная мутация проявляет свое действие на ранних этапах развития и обладает в какой-то мере плеiotропным эффектом. Судя по нашим данным, эта мутация не оказывает существенного влияния на площадь крыла, хотя этого нельзя сказать в отношении КФА (коэффициента флуктуирующей асимметрии).

Процессы, лежащие в основе формирования крыла четко отличаются в случае крыловых мутаций *yellow cut B⁺* и *rotund*. Что касается линии Белгород в контроле и в опыте, а также мутации *eyeless* общая картина морфогенеза крыла как у самок, так и у самцов демонстрирует очень сходную картину. Это особенно наглядно видно при использовании центроидов. Это свидетельствует о том, что влияние генотипической среды в виде отдельных крыловых мутаций начинает проявляться на процессах морфогенеза, а возможно еще и в ходе детерминации. В результате чего процесс формирования крыла протекает видоспецифично, формируя при этом фенотип крыла характерный для данной мутации. Совершенно иная картина, по видимому, происходит когда речь идет о так называемых хемоморфозах, одним из примеров которых является появление повреждений типа вырезка на крыле в наших опытах с аминоптеринем (в соответствии с рисунками 13,14).

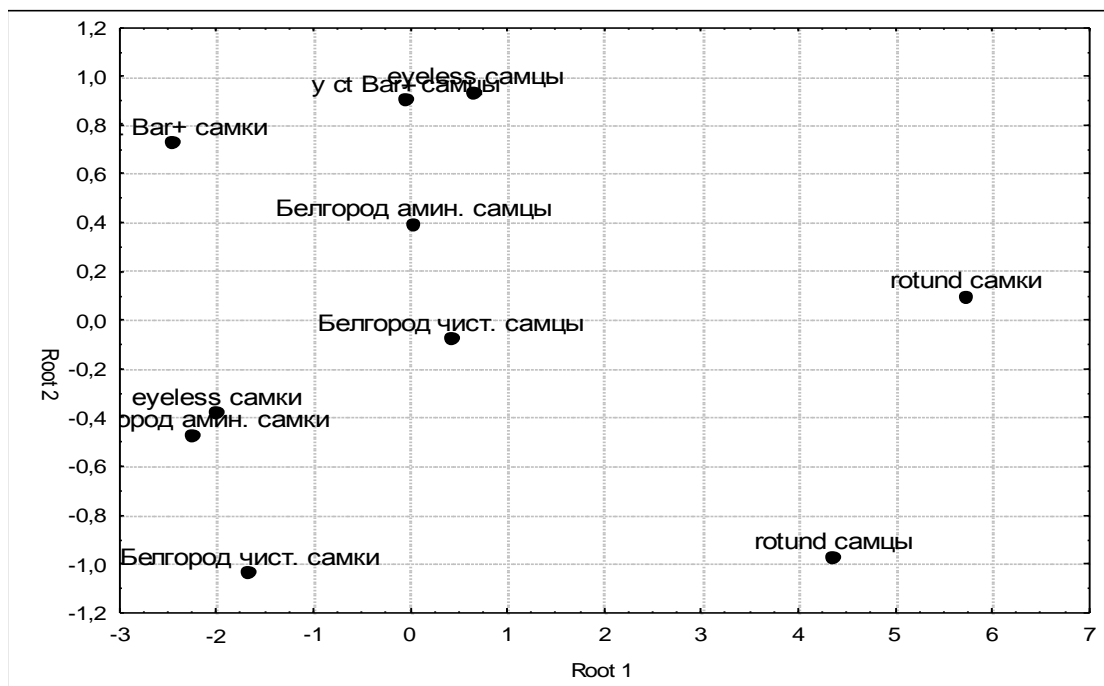


Рисунок 13 - Дискриминантный анализ площадей крыльев всех выборок.

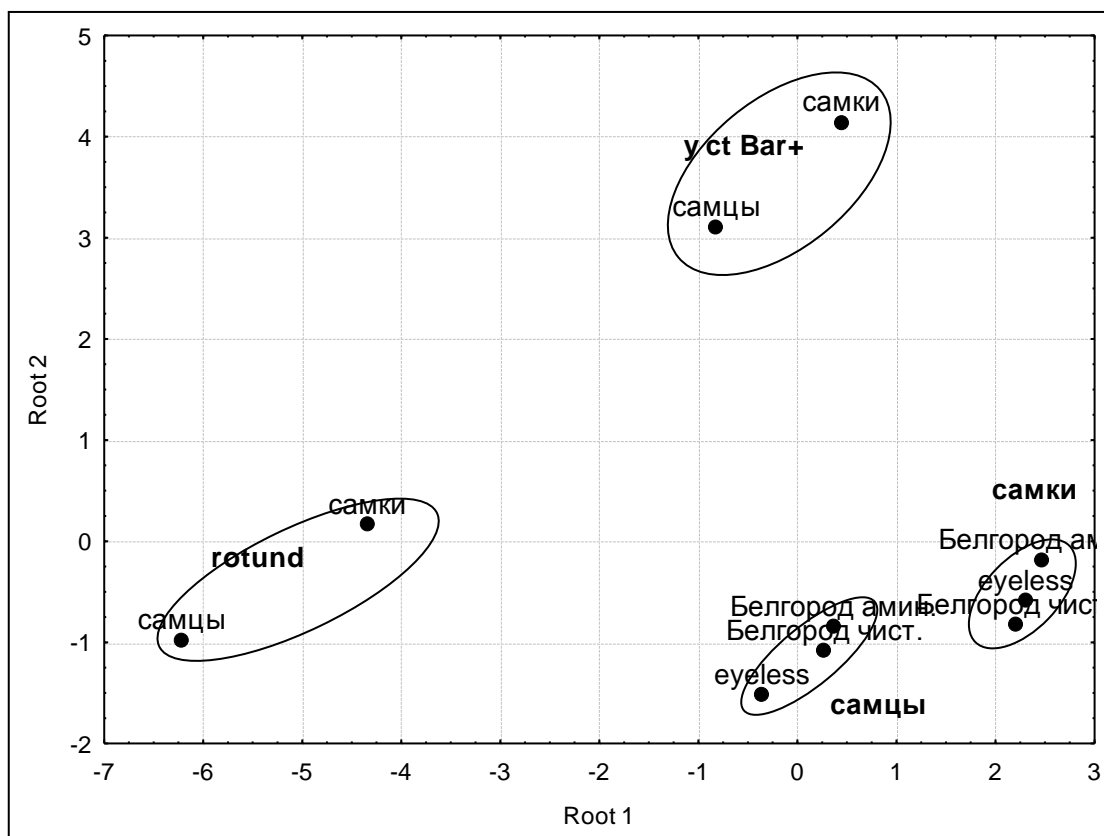


Рисунок 14 - Дискриминантный анализ площадей крыльев всех выборок с учетом пола (центроиды).

Тот факт, что дискриминантный анализ с использованием 24 показателей не позволяет обнаружить четких различий в контроле и в опыте с аминоптеринном, по видимому, свидетельствует о том, что в отличие от картины морфогенеза присущей мутантным линиям *rotund* и *yellow cut B+* аминоптерин не оказывает существенного влияния на сам процесс реализации этой программы, а вызывает лишь локальные нарушения в виде апоптоза.

Эти локальные повреждения носят чисто случайный характер и в левом и в правом крыле протекают асинхронно. Именно за счет этого мы и наблюдали достаточно высокие показатели КФА (коэффициента флуктуирующей асимметрии) при использовании аминоптерина. Мутация *eyeless*, по-видимому, не оказывает существенного влияния на процессы морфогенеза крыла, хотя и ген *eyeless* появляется на очень ранних стадиях развития. Судя по данным лаборатории генетики, сама эта мутация оказывает влияние на жизнеспособность и, в первую очередь, за счет нарушения эндокринной системы. Из приведенных выше рисунков видно, что в каждой изученной нами линии всегда обнаруживаются четкие половые различия в отношении крыла как единой структуры.

Воздействие физического стресса

В качестве физического стресса использовалось рентген и гамма-облучение дрозофил на стадии личиночного развития. При разработке моделей исследования в случае влияния химического фактора, обнаружила своё удобство для анализа линия дикого типа «Белгород», так как демонстрировала высокую встречаемость особей с повреждением крыла. Таким образом, она была выбрана для изучения влияния рентген и гамма-излучения на развитие и рост крыла. Данные виды воздействия являются в высокой степени повреждающими для линий *Drosophila melanogaster*, таким образом, линии дикого типа наиболее предпочтительны для подобного рода экспериментальных работ. Также была выбрана линия дикого типа «Биос», культивирующаяся в лаборатории на год (24 поколения) меньше, чем линия «Белгород» и, тем самым, потенциально обладающая большим потенциалом разнообразия метаболических реакций на повреждающее воздействие.

Биологический эффект гамма излучения на уровне соматических клеток был прослежен при изучении площади имагинальных дисков, сравнительного анализа морфометрических показателей крыла и анализа частоты встречаемости рентгенморфозов.

Дополнительно в данных опытах мы произвели вычисление коэффициента флуктуирующей ассиметрии крыла с учетом половых различий (в соответствии с рисунками 15,16). Согласно полученным результатам, гендерных различий по данному

признаку не обнаружено. Однако, имеются расхождения относительно линий. В линии «Биос-3» КФА увеличивается в 1,1 раза по сравнению с контролем у самок и в 1,5 раза у самцов. Иная ситуация наблюдается у линии «Белгород»: КФА у самок понизился в 1,3 раза и в 2,5 раза у самцов.

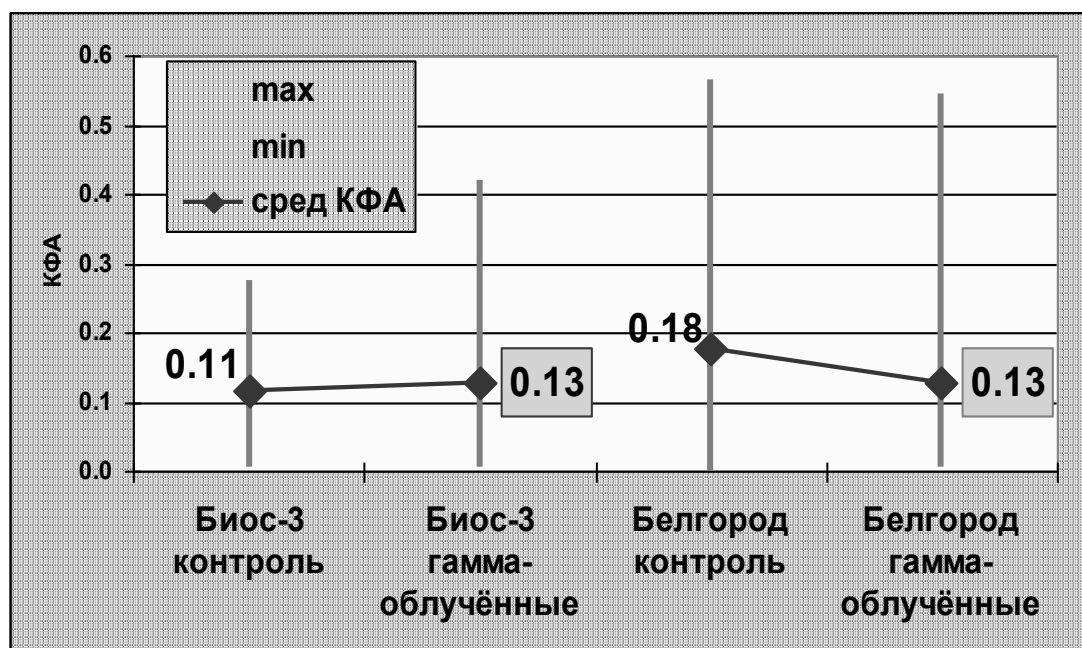


Рисунок 15 - Влияние гамма-облучения на степень флуктуирующей асимметрии имагинального дорзального мезоторакального диска у самок линий дикого типа.

Подобных данных в литературе нами встречено не было, поэтому по поводу полученных результатов мы можем выдвигать только предположения. Во-первых, известно, что во время закладки диска на уровне бластодермы родоначальницами на правой и левой стороне могут служить разные количества клеток, определяя тем самым повышенный показатель КФА, а во-вторых, нужно учитывать также гибель клеток при действии радиации.

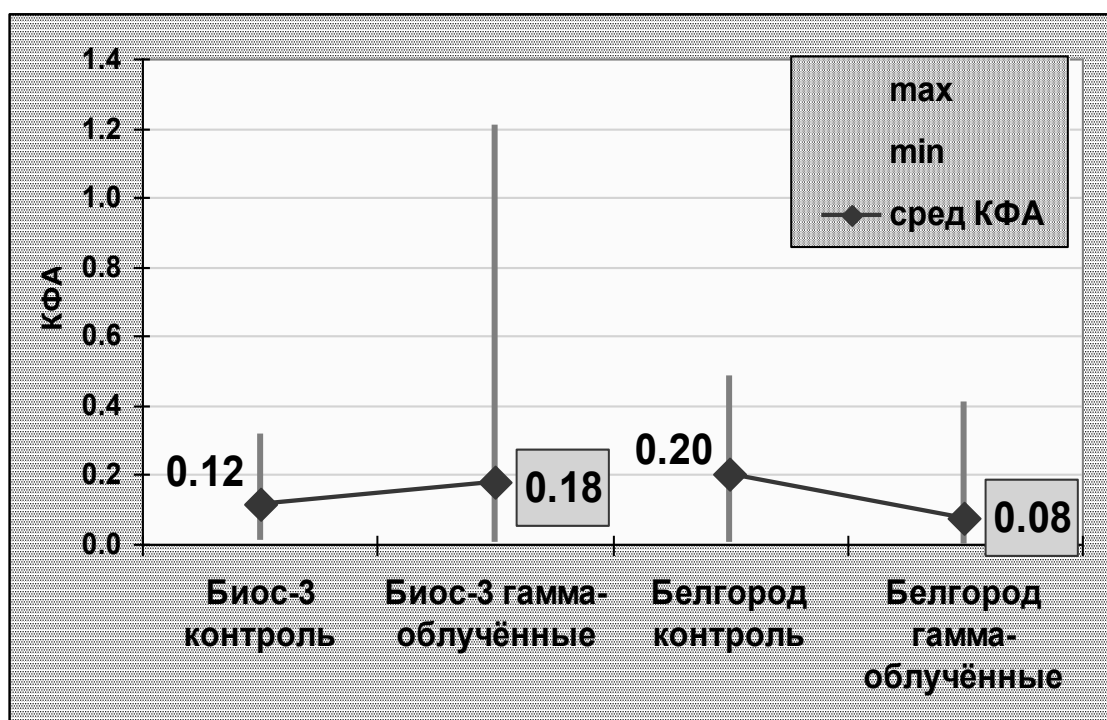


Рисунок 16 - Влияние гамма-облучения на степень флуктуирующей асимметрии имагинального дорзального мезоторакального диска у самцов линий дикого типа.

Также в нашей работе производился подсчет частоты встречаемости рентгенморфозов типа «вырезка на крыле».

Также в данной работе проводился сравнительный анализ частоты встречаемости рентген и хемоморфозов у линий дикого типа «Белгород» и «Биос-3». Из полученных данных видно, что обе линии демонстрируют сходную тенденцию по частоте встречаемости повреждений в зависимости от дозы и вида излучения. Относительно опытов с метотрексатом подобной тенденции не обнаружено: линия «Белгород» проявляет гораздо большую чувствительность к факторам химического стресса (в соответствии с рисунком 17, сравнивается с метатрексатом), чем линия «Биос-3».

Таким образом, можно предположить, что данные линии в условиях действия различных факторов стресса проявляют устойчивость к одним и чувствительность к другим факторам. Возможно, что при действии физического и химического факторов среды запускаются различные механизмы репарации и стресс реакции, а также важную роль играет культивирование линий в лабораторных условиях.

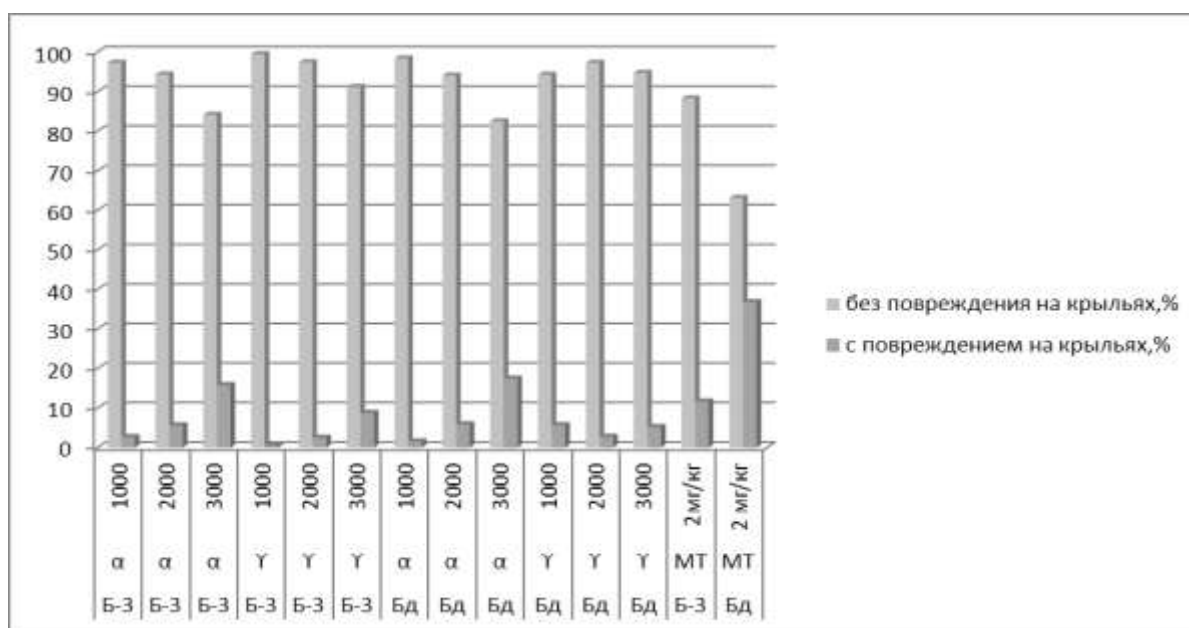


Рисунок 17 - Частота встречаемости рентген и хеоморфозов типа «вырезка на крыле» у линий «Белгород» и «Биос-3» в зависимости от дозы облучения (в сравнении с данными по эффекту концентрации метатрексата).

Сравнительный анализ морфометрических показателей крыла показал, что наибольшее изменение соотношения параметров поверхности крыла наблюдается при дозе 1000 Р как в случае гамма, так и рентген –облучения в обеих линиях.

Морфометрический анализ крыла линии дикого типа «Белгород» при различных видах облучения

Данные морфометрического анализа крыла линии дикого типа «Белгород» обнаружили различия относительно линейных и двумерных параметров, как в случае гамма-, так и в случае рентген-облучения.

Что касается последствий гамма облучения, то дозы 1000, 2000 и 3000 Р по 18-ти линейным измерениям крыла не привели к статистически значимым различиям. Таким образом, суммирующая соотношения линейных параметров крыла хотя и имеет некоторые изменения по Оси 2 (в соответствии с рисунком 18, можно наблюдать скопления случаев) соответственно дозе облучения, не имеет существенных отклонений от контроля. Стоит также заметить, что морфометрические данные облучённых особей смещены по Оси 1 относительно контроля. Последний факт ясно свидетельствует в пользу предположения, что наличие облучения в любом случае сказывается на соотношении параметров внутри крыла.

Однако, присутствие в анализе таких параметров, как KB, KI, KE, KD, KF, MN не позволяло разделить выборки мух на классы по дозе облучения (в соответствии с рисунком

19). Предположительно, это может объясняться обширной изменчивостью дистальной части крыла при данном типе облучения. Параметр MN характеризует уже древнюю часть крыла, и достаточно удивительной кажется его вариабельность у всех исследуемых выборок мух. Видимо, в данном случае, именно данный показатель обладает подобной характеристикой в экспериментальной линии дикого типа.

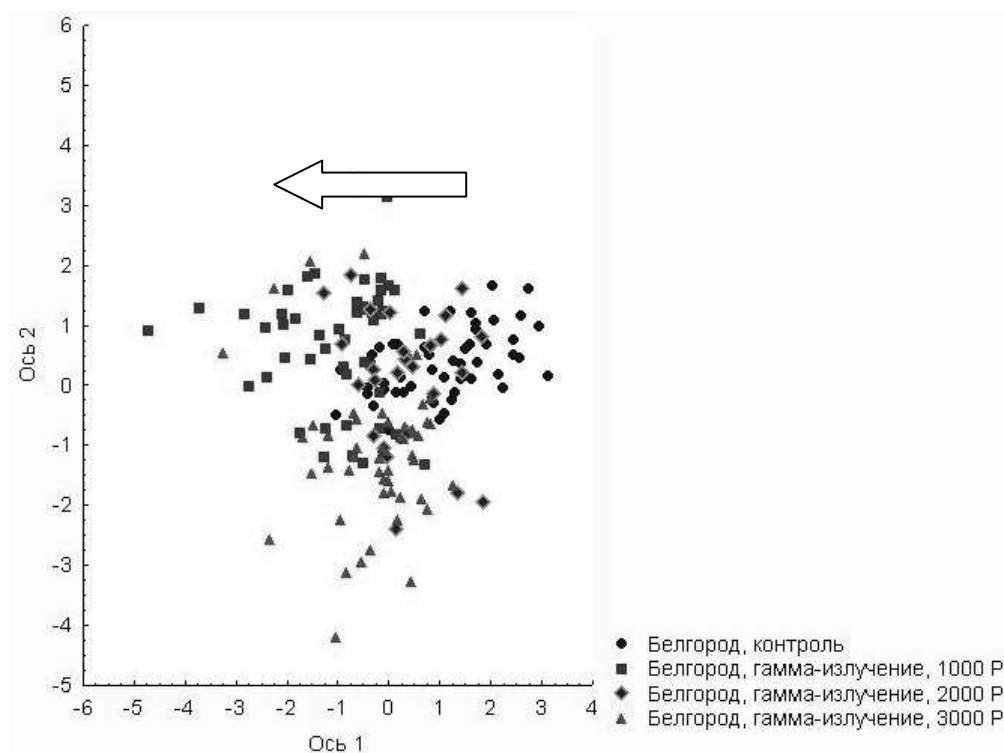


Рисунок 18 - Графическое представление анализа линейных морфометрических показателей крыла выборок линии «Белгород» *Drosophila melanogaster*, полученных в результате гамма облучения (канонический анализ, стрелкой показано смещение показателей выборок по Оси 1).

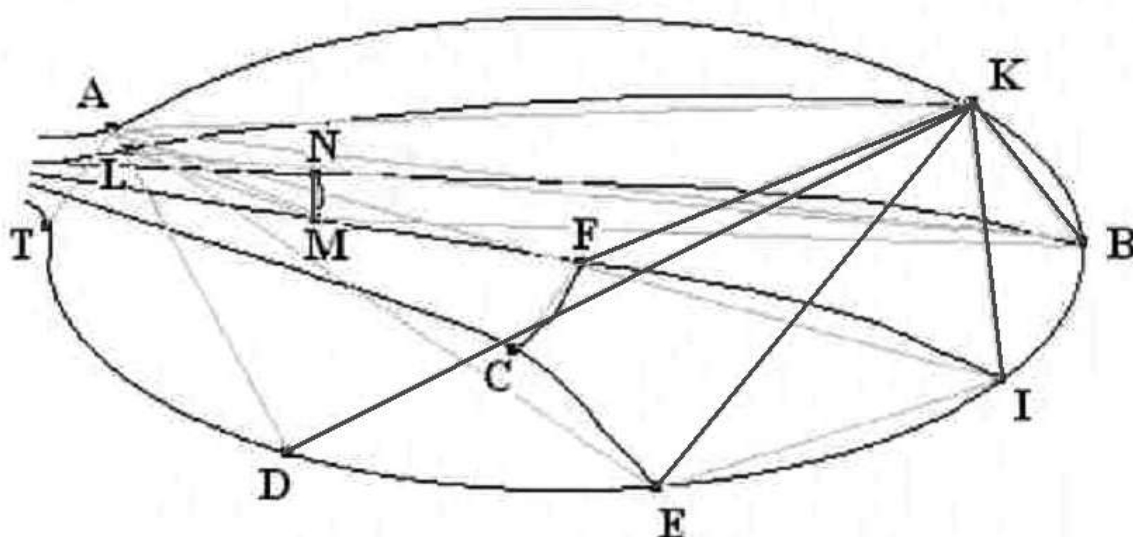


Рисунок 19 - Морфометрические параметры крыла, включение которых в анализ не позволяет обнаружить различия по дозам гамма облучения в линии дикого типа «Белгород».

При проведении канонического анализа, включающем площади ячеек крыла, экспериментальные выборки разделяются, однако очень слабо (в соответствии с рисунком 20). Снова можем наблюдать смещение параметров всех облучённых особей относительно контроля по Оси 1, характеризующей некий основной фактор, определяющий отличия между выборками.

Очевидно, что такой фактор – наличие облучения. Таким образом, снова подтверждается тот факт, что облучение любой из использованных доз однозначно меняет соотношение параметров крыла, в данном случае на уровне площади ячеек.

Примечательно, что морфометрический анализ осложнялся присутствием значений площадей 22-й и 24-й ячеек. Причиной этого мы также считаем высокую нестабильность дистальной части крыла при воздействии гамма- облучения.

Разумеется, данные различия морфометрических характеристик выборок, полученных при гамма облучении, нельзя считать значимыми, возможно лишь говорить о некоторых тенденциях.

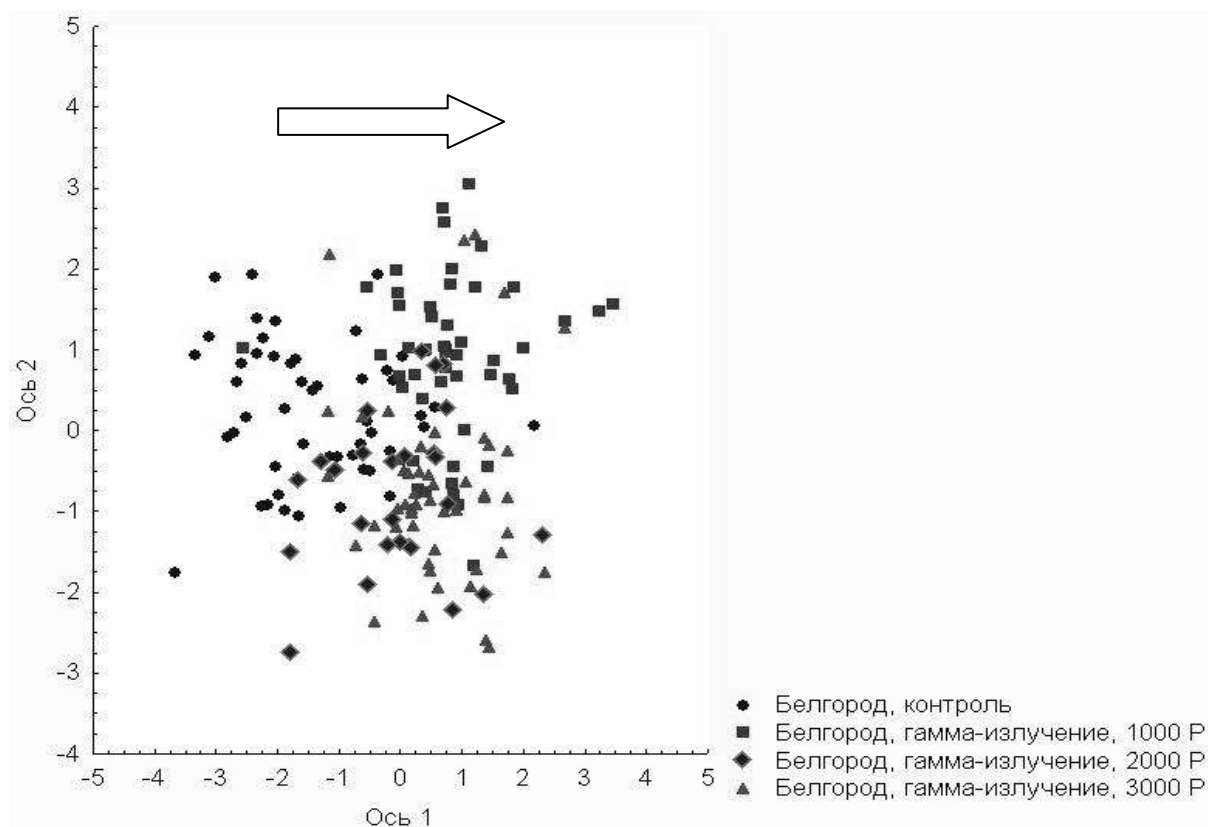


Рисунок 20 - Графическое представление анализа двумерных морфометрических показателей крыла выборок линии «Белгород» *Drosophila melanogaster*, полученных в результате гамма облучения (канонический анализ по площадям ячеек крыла, стрелкой показано смещение показателей выборок по Оси 1).

При исследовании выборок мух линии «Белгород», подвергнутых рентген облучению, обнаружилась идентичная для случая гамма облучения характеристика: наличие облучения любой из представленных доз приводит к смещению суммирующей морфометрических параметров по Оси 1 относительно контроля (в соответствии с рисунком 21). Однако, в данном случае, облучение дозой 1000 Р демонстрирует гораздо более значимые отличия, нежели 2000 Р и 3000 Р. Предположительно, это связано с жёстким отбором при воздействии высоких доз радиации, таким образом, параметры выборок мух, облучённых 2000 Р и 3000 Р, практически «накладываются» на морфометрические характеристики необлучённых мух. Данные наблюдения касаются линейных параметров крыла.

Относительно двумерных морфометрических характеристик, была получена та же картина, что и при гамма-облучении, однако в усиленном варианте: выборка особей, облучённых рентгеном дозой 1000 Р, кардинально отличается от контроля и выборок, полученных при дозах радиации 2000 Р и 3000 Р. Таким образом, мы можем наблюдать 2 основных разделяющихся класса (в соответствии с рисунком 22, 23), один из которых

представляет собой морфометрические параметры выборки мух при облучении 1000 Р. Причины подобного разделения обсуждались при анализе воздействия гамма-радиации на особей линии «Белгород».

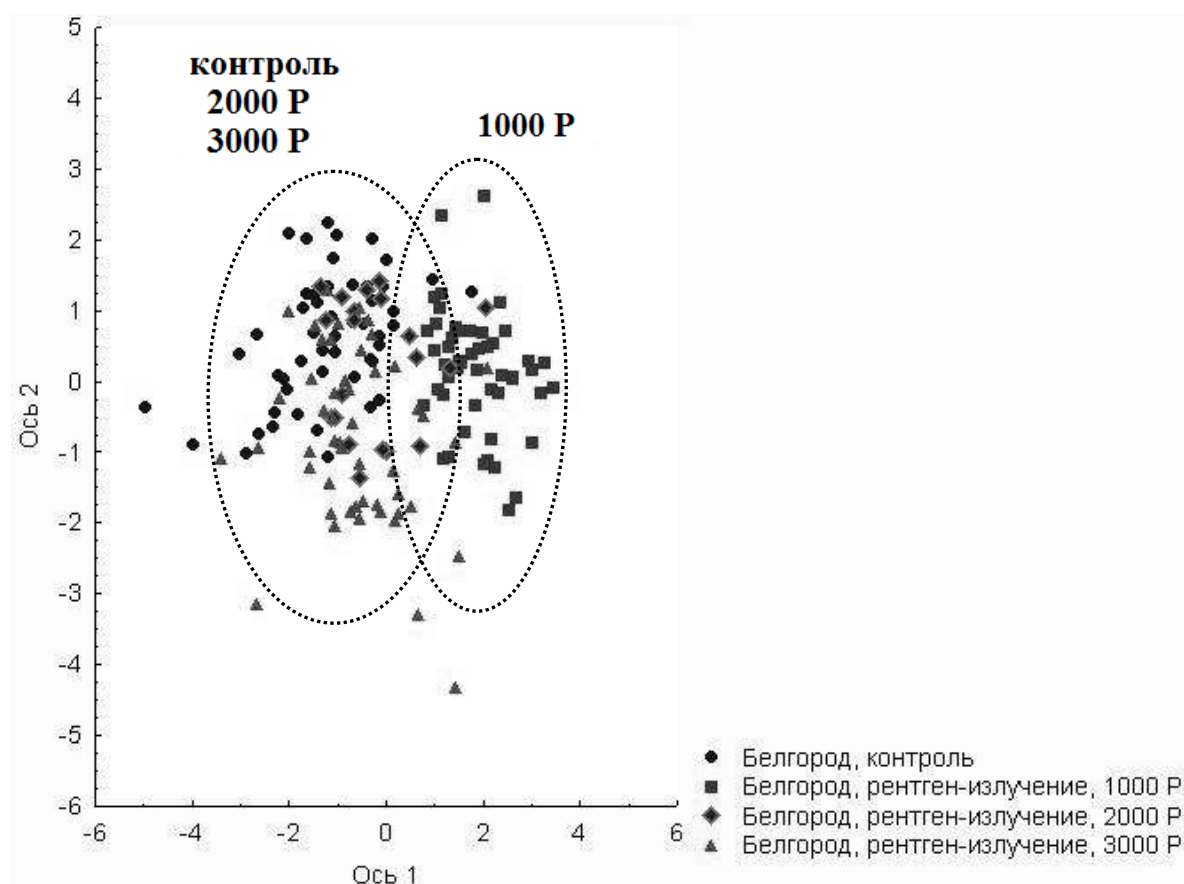


Рисунок 22 - Графическое представление анализа линейных морфометрических показателей крыла выборок линии «Белгород» *Drosophila melanogaster*, полученных в результате рентген облучения (канонический анализ).

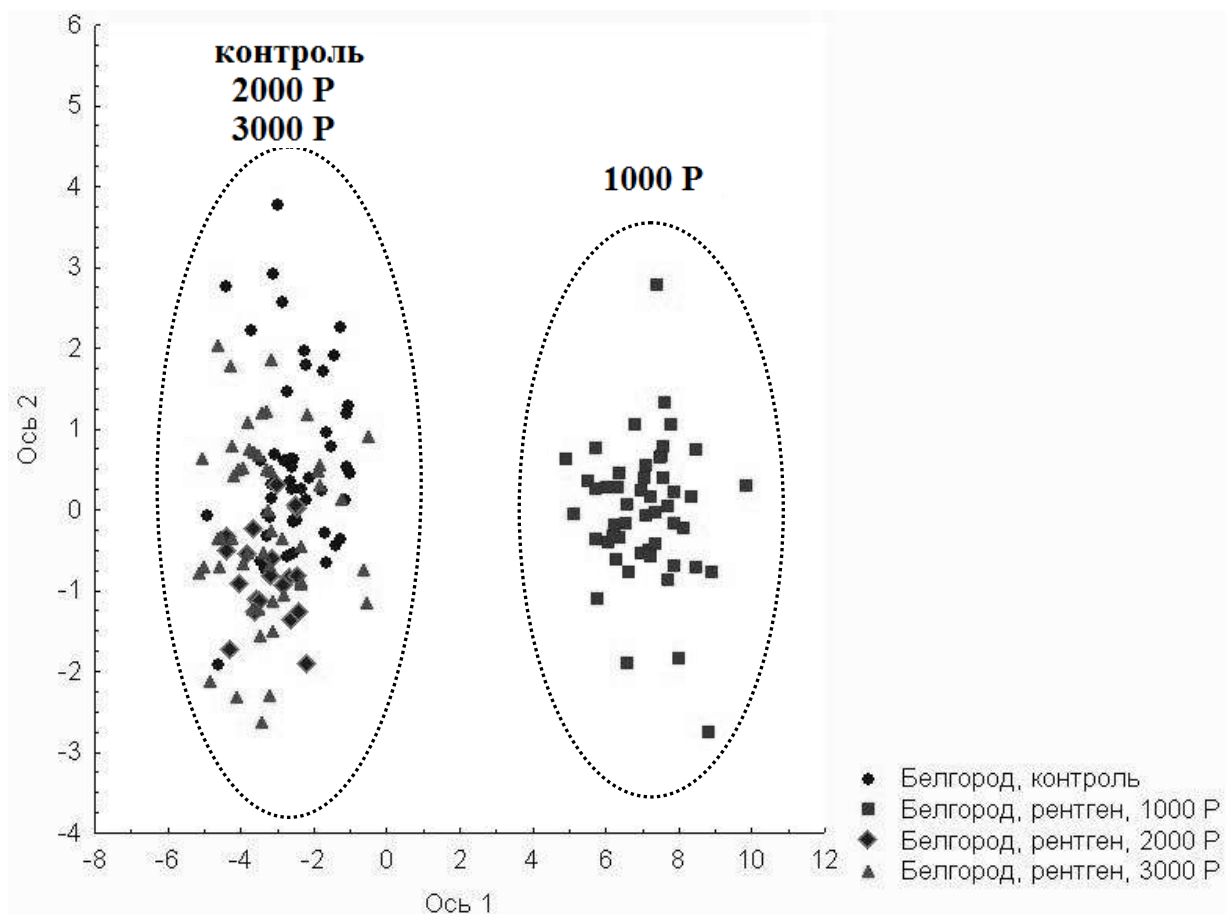


Рисунок 23 - Графическое представление анализа двумерных морфометрических показателей крыла выборок линии «Белгород» *Drosophila melanogaster*, полученных в результате рентген облучения (канонический анализ по площадям ячеек крыла).

Для сравнения эффекта различных видов облучения, мы сравнили полученные данные с результатами наших дополнительных исследований пространственных характеристик крыла линии «Белгород» в условиях присутствия инкорпорированной радиоактивной метки C^{14} . В данном случае, обнаруживаются значимые различия по всем, как линейным, так и двумерным параметрам (в соответствии с рисунком 24). Обе выборки, подвергнутые воздействию радиации (P и F_1) по соотношению морфометрических показателей заметно отстоят от контроля по Оси 1 на графике (в соответствии с рисунком 24). Таким образом, согласно каноническому анализу, вновь на соотношение параметров крыла наибольшее воздействие оказывает само наличие радиации. Ось 2, очевидно, характеризует продолжительность интенсивности эффекта фактора, иначе – пролонгирующий эффект. Можно наблюдать смещение вверх по Оси 2 показателей родительского поколения, непосредственно употреблявшего метку C^{14} с пищей. Морфометрические параметры F_1 близки по значениям на Оси 2 к контролю, но всё же не идентичны характеристикам необлучённых особей.

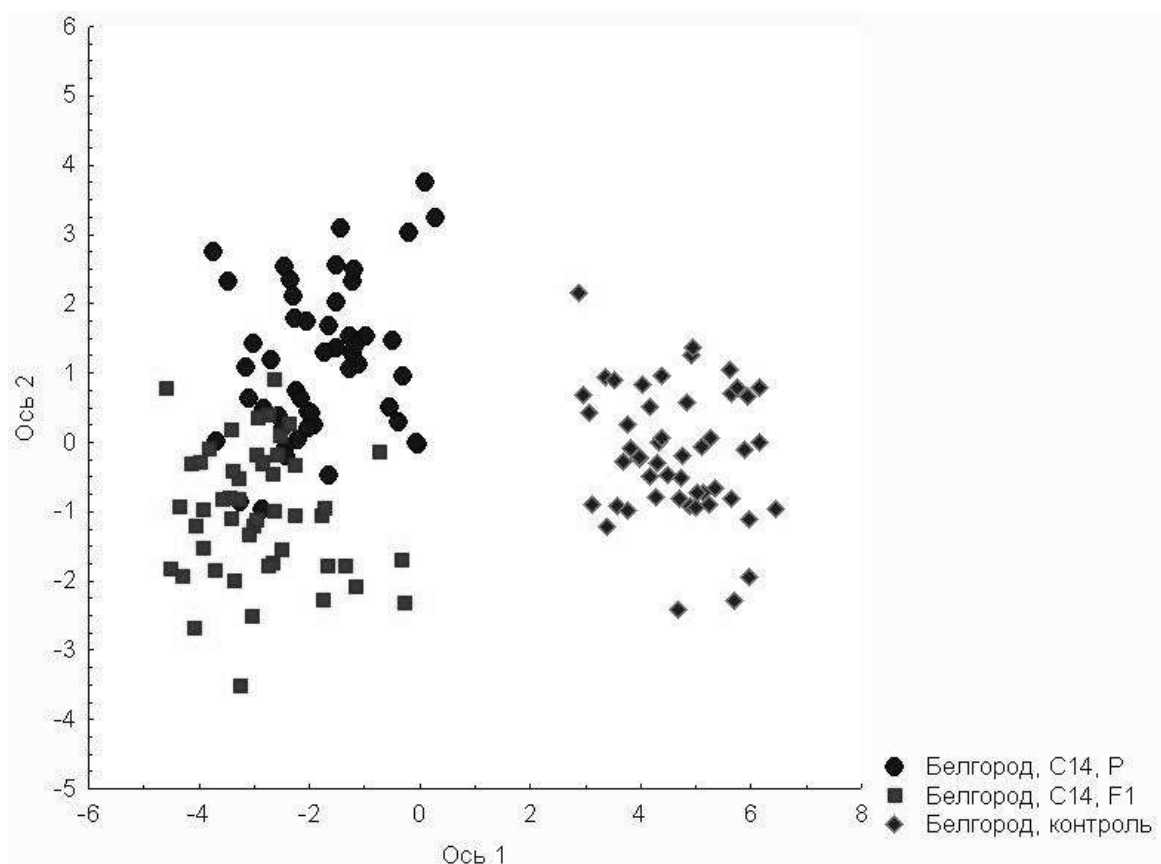


Рисунок 24 - Графическое представление анализа морфометрических показателей крыла выборок линии «Белгород» *Drosophila melanogaster*, полученных в условиях присутствия инкорпорированной метки C^{14} (канонический анализ).

Таким образом, на уровне пространственной характеристики крыла для линии «Белгород» обнаружен достоверный эффект инкорпорированной метки, а также наличие пролонгирующего эффекта данного вида хронического облучения.

Морфометрический анализ крыла линии дикого типа «Биос-3» при различных видах облучения

По результатам морфометрического анализа параметров крыла выборок линии «Биос-3», подвергнутой гамма облучению, обнаружены достоверные и значимые различия (в соответствии с рисунком 25). В отличие от линии «Белгород», на графике выборки, облучённые разной дозой гамма радиации, хорошо разделяются и демонстрируют гораздо меньшую дисперсию значений показателей. Данные различия обнаружены при включении в анализ всех, как линейных промеров, так и площадей ячеек крыла.

На этот раз Ось 2 характеризует наличие облучения, таким образом, уступая место некому другому фактору, который более явно влияет на соотношение морфометрических параметров крыла. Нетрудно заметить, что данный фактор соответствует дозе облучения (в

соответствии с рисунком 25). Интересно, что значения показателей выборки особей, облучённых 3000 Р, отклоняются по Оси 1 относительно контроля в иную сторону, нежели 1000 Р и 2000 Р. Таким образом, заметно, что доза облучения 1000 Р кардинально меняет структуру крыла, по крайней мере, относительно соотношений его морфометрических параметров. Особи, облучённые дозой 2000 Р, частично близки по характеристикам контролю, частично облучённым 1000 Р, несущим новые свойства пространственной структуры крыла. Изменения морфометрии крыла, вызванные дозой облучения 3000 Р, качественно иные и ни по одной из основных осей (в графическом представлении анализа) практически не перекрываются с контролем.

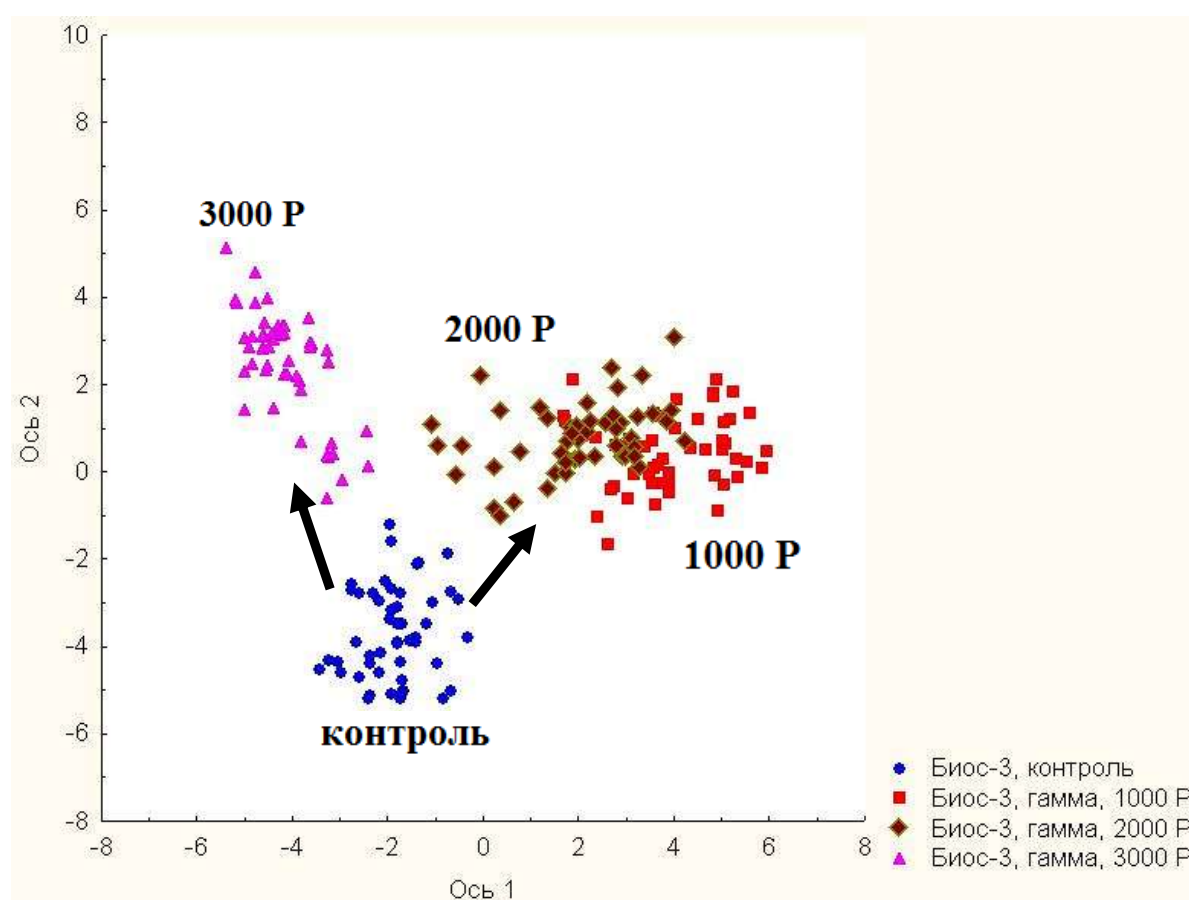


Рисунок 25 - Графическое представление анализа морфометрических показателей крыла выборок линии «Биос-3» *Drosophila melanogaster*, полученных в условиях гамма облучения (канонический анализ).

В случае рентген облучения особей линии «Биос-3», также обнаруживается достоверное и значимое отличие выборок, кроме тех, что были получены в результате воздействий дозами 2000 Р и 3000 Р (в соответствии с рисунком 26). В данном анализе заметно, что основная ось разделения (Ось 1) отвечает за наличие облучения. Ось 2

достаточно сложно наверняка отождествить с каким-либо фактором, по той причине, что значения параметров контроля по сравнению с опытом, существенно более дисперсны.

По нашим предположениям, данный эффект в случае рентген облучения возникает в результате выживания особей с достаточно узким спектром соотношений параметров крыла. Также, стоит отметить, что пространственные характеристики крыла особей, облучённых рентгеном дозой 1000 Р, значительно отличаются от контроля и остальных выборок, что мы наблюдали в линии «Белгород» при гамма и рентген облучении.

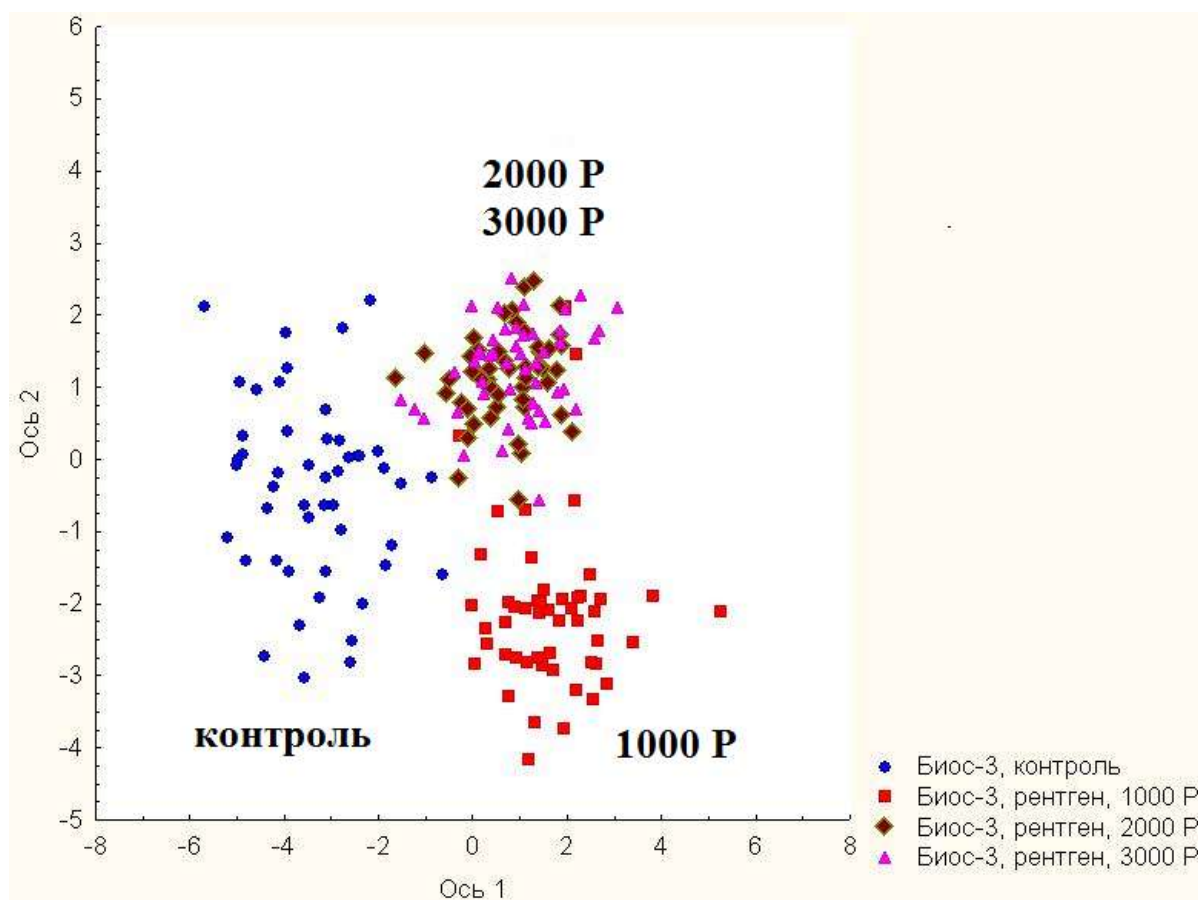


Рисунок 26 - Графическое представление анализа морфометрических показателей крыла выборок линии «Биос-3» *Drosophila melanogaster*, полученных в условиях рентген облучения (канонический анализ).

При попытке обнаружить наличие пролонгирующего эффекта на примере линии «Биос-3» в случае хронического облучения меткой C^{14} , мы столкнулись с результатами, аналогичными полученным на линии «Белгород» (в соответствии с рисунком 27). Ось 1, очевидно, характеризует соотношение морфометрических параметров крыла в выборках до и после воздействия облучения. Ось 2 соответствует изменениям исследуемых параметров в поколениях, иначе во времени, таким образом, обнаруживая наличие пролонгирующего

эффекта. И снова в F_1 не наблюдается возвращения пространственных характеристик крыла к значениям контроля, по обеим главным осям, соответствующим факторам, разделяющим выборки. Таким образом, и в случае линии «Биос-3» обнаруживается наличие пролонгирующего эффекта на уровне морфометрических характеристик крыла.

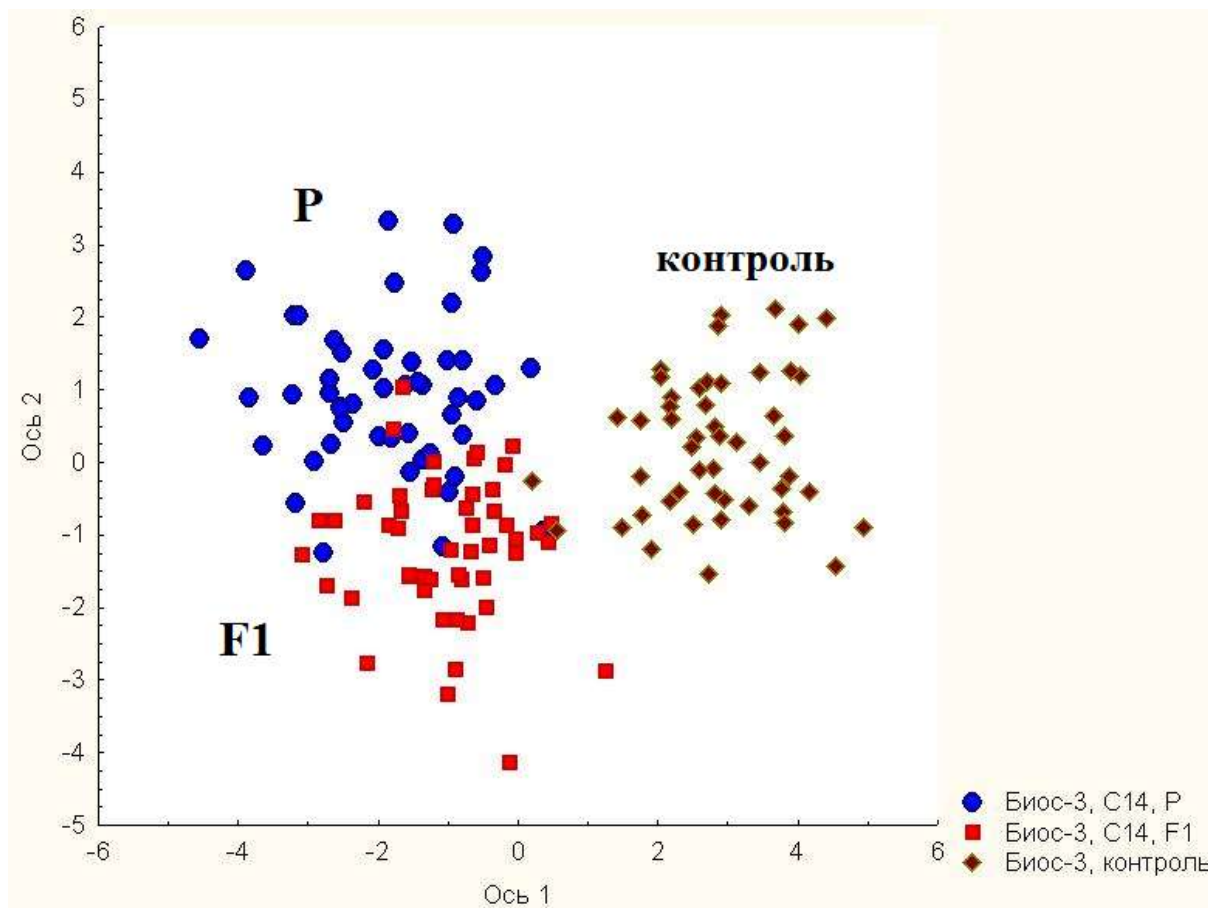


Рисунок 27 - Графическое представление анализа морфометрических показателей крыла выборок линии «Биос-3» *Drosophila melanogaster*, полученных в условиях присутствия инкорпорированной метки C^{14} (канонический анализ).

Стоит также отметить, что во всех случаях морфометрического анализа, проведённого в данной части работы, значимые отличия выборок чаще всего наблюдаются по параметрам AD, AT и AE (в соответствии с рисунком 27). Эти параметры охватывают более древнюю часть крыла, а также нижнюю область дистальной части крыла, в которой, судя по более ранним исследованиям лаборатории, реже наблюдается появление повреждений под влиянием стресса, нежели в средней области.

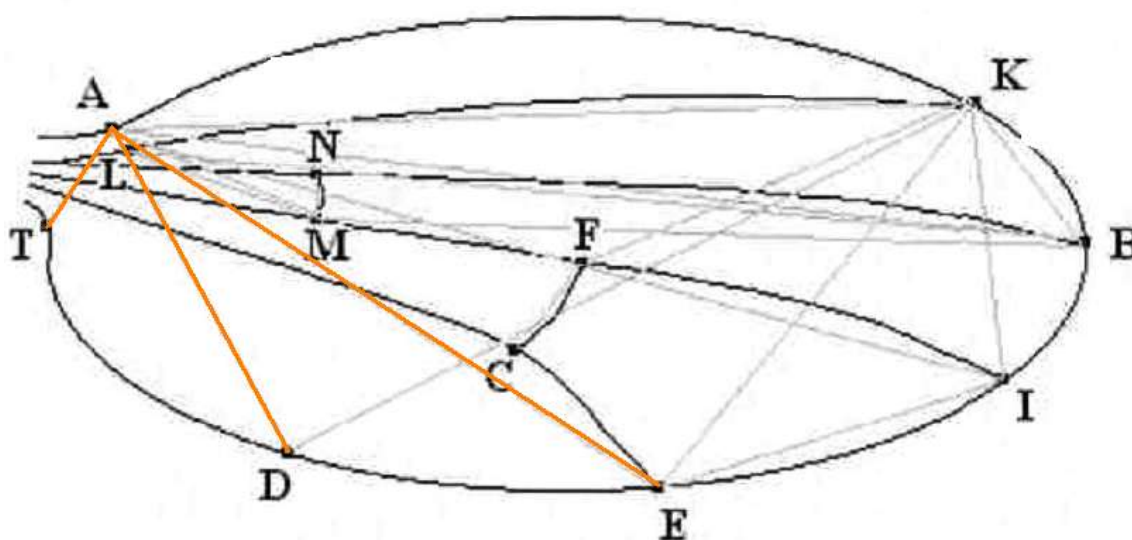


Рисунок 28 - Морфометрические параметры крыла, включение которых в анализ не позволяет обнаружить различия по дозам гамма облучения в линии дикого типа «Биос-3».

Подводя итог исследованиям, представленным в данной главе, можно обозначить следующие тезисы:

- пространственная структура крыла всегда отражает наличие/отсутствие воздействия радиации, независимо от того, какого типа излучение – гамма, рентген или хроническое β -облучение и независимо от дозы (относительно доз, использованных в работе);
- сравнительный анализ морфометрических показателей крыла позволяет определить зону, наиболее подверженную изменениям в результате воздействия радиации (показано на примере гамма облучения в линии «Белгород»);
- доза 1000 Р как в случае гамма, так и рентген облучения, приводит к самым значительным отличиям соотношений морфометрических параметров крыла, по сравнению с контролем и дозами 2000 Р и 3000 Р (показано на обеих исследованных линиях дикого типа);
- линия дикого типа «Биос-3» обнаруживает большую радиочувствительность, по сравнению с линией «Белгород», таким образом обнаружено влияние срока культивирования в лабораторных условиях на степень биологического эффекта радиации (обратная зависимость);
- у обеих экспериментальных линий дикого типа обнаружено наличие пролонгирующего эффекта на уровне морфометрических характеристик крыла в условиях хронического β -облучения.

2.5.3. Обнаружение наличия взаимодействия на молекулярном уровне продуктов генов *vestigial* и *scalloped*.

Как было показано в 1 этапе НИР, все попытки элиминировать повреждения крыла в ходе отбора в линии *Bar* x *vg sv2* окончились неудачно (в соответствии с рисунком 29). Несмотря на минус селекцию, мухи с повреждением крыла продолжали обнаруживаться с частотой 1-2%. Результаты анализирующего скрещивания показали, что особи с повреждением крыла в данной серии опытов имеют генотип *vg+ / vg+*. Позднее было экспериментально установлено, что мухи с подобным фенотипом несут мутацию *scalloped*.



Рисунок 29 - Частота возникновения повреждения крыла в ряду поколений от скрещивания особей из линии F₁₁₀ из сублинии *Bar vg sv(2)* без повреждения крыла, %

Таким образом, стало ясно, что в ходе длительного отбора на уменьшение частоты повреждения крыла возникает спонтанная мутация *scalloped* (в соответствии с рисунком 30, 31). Появилась возможность в любой момент существования стволовой линии *Bar sv(2)*, начав отбор «без вырезки» x «без вырезки», получить мутацию *scalloped*, что и было нами сделано. В 277 поколении мы скрестили самцов и самок без повреждения крыла и повели отбор в минус направлении. Спустя 4 поколения с момента отбора, проведя анализирующее скрещивание, мы убедились в том, что выделили мутантную линию *scalloped* и повели в дальнейшем отбор в минус селекции. Для сравнения результатов, в нашей линии мы использовали аналогичные данные по 110 поколению. Это позволяет проследить динамику процессов, лежащих в основе экспрессии мутации *scalloped*.

Также наличие спонтанной мутации *scalloped* было косвенно зафиксировано нами с помощью морфометрического анализа крыла.

Видимо, после 283-го поколения происходит некое качественное изменение функционирования генома. Учитывая зафиксированное ранее спонтанное появление в ходе отбора мутации *sd*, можно предполагать возникновение новой мутации, которое и привело к отклонению по морфометрическим характеристикам крыла. Но анализ литературных данных говорит и об иной возможности.

В ходе нормального развития крылового диска продукты генов *sd* и *vg* действуют совместно для обеспечения процессов формирования крыла. В случае других дисков, при эктопической экспрессии *vg*, взаимодействие продуктов двух этих генов ведет к эктопическому развитию крыла.

Открытие того, что *Vg* и *Sd* образует комплекс, необходимый для нормального развития крыла, поставило вопрос о природе данного комплекса и о том, как он осуществляет свои функции [3]. Исследования в этой области показали, что при формировании комплекса *Sd/Vg* у *Sd* происходит переключение специфичности связывания с ДНК. Если до формирования комплекса *Sd* мог связываться, в основном, с последовательностями ДНК, имеющими так называемые А-сайты (один или два сайта связывания; в последнем случае необходимо две молекулы *Sd*), то после формирования комплекса его связывание с ДНК наблюдалось в участках, несущих В-сайты (два сайта связывания, расположенные последовательно). В это же время, комплекс почти терял способность связываться с А-сайтами. Далее было установлено, что для формирования комплекса на В-сайтах не требуется двух молекул *Sd*, т.е. комплекс представляет собой гетеродимер, в котором на 1 молекулу *Sd* приходится 1 молекула *Vg*. Причём, в растворе комплекс *Vg/Sd* представлен как собственно димер, но при связывании с ДНК он образует гетеротетрамер с еще одним таким же комплексом. При этом связывание комплекса с ДНК происходит посредством *Sd*, но не *Vg*.

Итак, в крыле оба гена выполняют функцию интеграции информации с сигнальных систем, влияя на экспрессию генов, обеспечивающие процессы морфогенеза крыла.

Учитывая вышеприведённый факт, мы склоняемся к поиску объяснения неоднозначных результатов наших исследований именно в области специфического взаимодействия генов *sd* и *vg*. Если допустить, что к 340-му поколению отбора, на фоне процесса генетической ассимиляции, произошло образование комплекса *Vg/Sd*, то данные дискриминантного анализа морфометрии крыла лишь отражают это изменение матричных процессов в геноме мух.

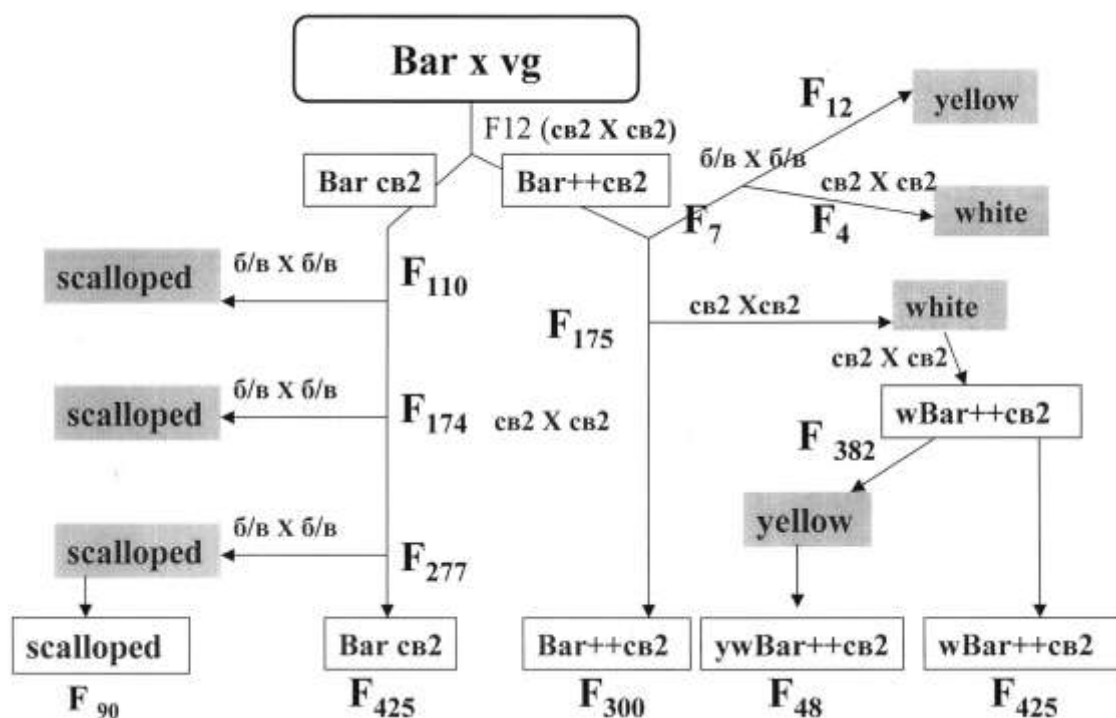


Рисунок 30 - Схема опытов по изучению влияния длительного направленного отбора на интенсивность спонтанного мутационного процесса.

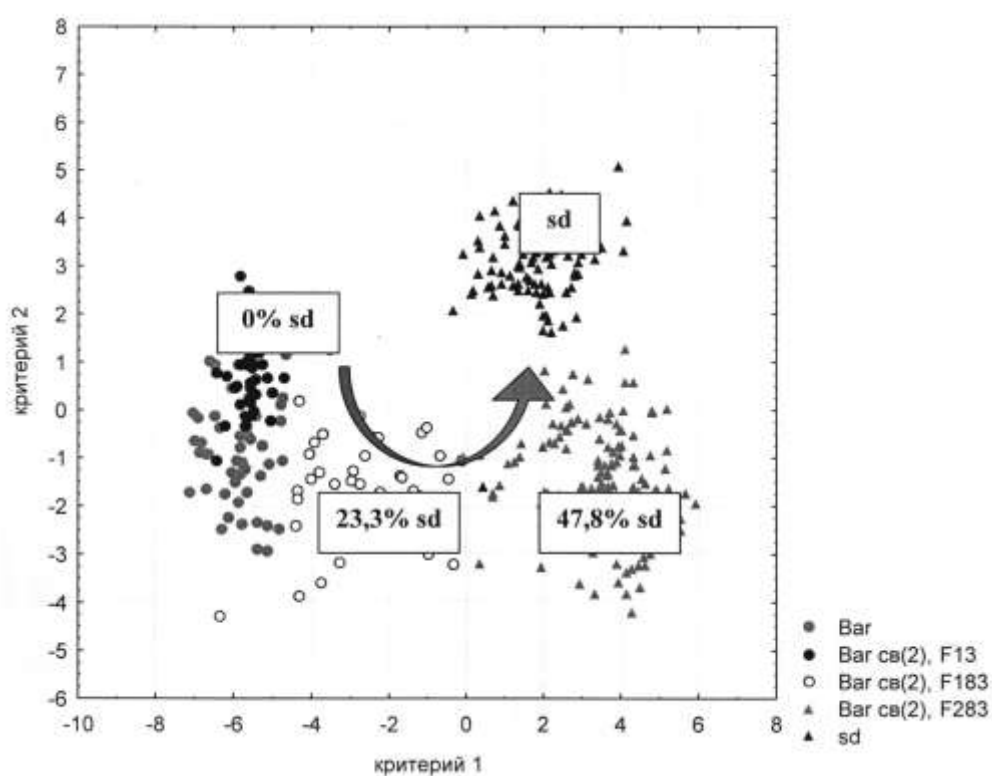


Рисунок 31 - Динамика изменения генотипической среды в ходе отбора в линии *Bar x vg cb2 (Bar cb2(2))*.

Для подтверждения наших результатов, полученных методами генетического анализа, о том, что, начиная с 90-го поколения отбора в линии *Bar vg⁺/vg sv2* появилась спонтанная мутация *sd*, обусловившая появление особей *vg⁺/vg⁺*, был произведён молекулярный анализ локуса *scalloped*. Согласно полученным данным секвенирования, обнаружена вставка дополнительного аденина в положении 160 в 8 экзоне исследуемого локуса (в соответствии с рисунком 32). Этот факт свидетельствует в пользу наличия мутации в гене *scalloped*, т.к. вставка дополнительного аденина находится в транскрибируемой части гена, а следовательно, влияет на образование продукта гена – белка Scalloped, необходимого ядерному протеину Vestigial для его локализации внутри ядра клетки. А именно, вставка аденина будет приводить к сдвигу рамки считывания. В результате сдвига рамки считывания, с данного транскрипта будут считываться укороченные нефункциональные продукты, в силу преждевременной терминации трансляции [4,5].

```
>gb|EC074216.1| U 295072 CK01 Drosophila melanogaster cDNA clone 58186, mRNA sequence.
Length=439

Score = 303 bits (164), Expect = 1e-79
Identities = 172/176 (97%), Gaps = 1/176 (0%)
Strand=Plus/Minus

Query 1 AGACTGTIGATATACGGCAAATATTCGACAAGTTTCCGGAGAAATCTGGGGGCCTTAAAG 60
      |||
Sbjct 310 AGACTGTIGATATACGGCAAATATTCGACAAGTTTCCGGAGAAATCTGGGGGACTTAAAG 251

Query 61 ATCTCTACGAAAAGGGTCCACAGAATGCGKTTTACCTAGTTAAATGCTGGGCGGACCTGA 120
      |||
Sbjct 250 ATCTCTACGAAAAGGGTCCACAGAATGCGTTTACCTAGTTAAATGCTGGGCGGACCTGA 191

Query 121 ATACCGATCTAACAACCGGCAGCGAAACGGGTGATTCTA-TGGCGTAACCAGCCA 175
      |||
Sbjct 190 ATACCGATCTAACAACCGGCAGCGAAACGGGTGATTTTAAATGGCGTAACCAGCCA 135
```

Рисунок 32 – Схема структуры 8 экзона локуса *scalloped*. Заметна вставка дополнительного аденина в положении 160.

В результате работы был получен сиквенс, соответствующий транскриптам Е и Н, исследуемого гена.

Выравнивание фрагмента полученного сиквенса относительно кодирующей последовательности транскрипта Е гена *sd*(NM_001103520.2) показывает наличие полиморфизмов на уровне ДНК в пределах анализируемого района (в соответствии с рисунками 33, 34).

```

/sdE_cds/      ATGAAAAACATCACCAGCTCGAGCACTTGCAGCACTGGGCTGCTGCAATTGCAGAACAAC 60
/sd_seq/       ATGAAAAACATCACCAGCTCGAGCACTTGCAGCACTGGGCTGCTGCAATTGCAGAACAAC 60
                *****
/sdE_cds/      CTGAGCTGCAGCGAGTTGGAAGTTGCCGAGAAGACAGAACAACAGGCAGT-TGGACCCGG 119
/sd_seq/       CTGAGCTGCAGCGAGTTGGAAGTTGCCGAGAAGACAGAACAACAGGCAGT-TGGACCCGG 120
                *****

```

Рисунок 33 - Выравнивание кодирующей последовательности транскрипта Е гена sd(NM_001103520.2) относительно соответствующего фрагмента полученного нами сиквенса

Особого внимания заслуживает вставка А (показано зеленым) в положении 111 кодирующей последовательности. Фрагмент сиквенса, соответствующий сайту данной инсерции представлен на рисунке 2 в виде хроматограммы. Данная мутация приводит к сдвигу рамки считывания.

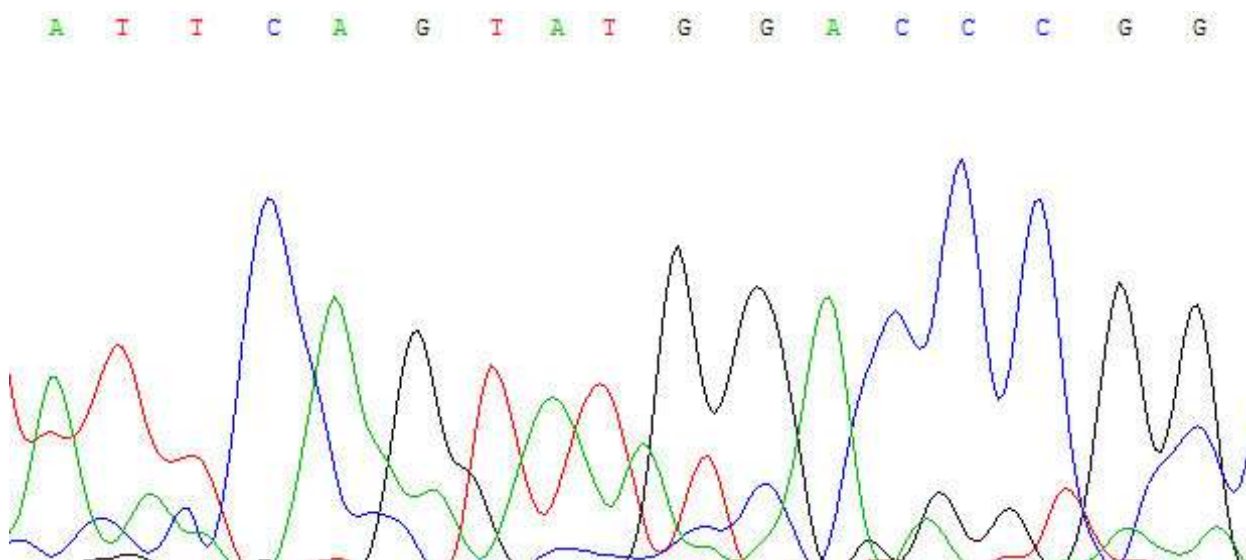


Рисунок 34 - Фрагмент сиквенса, содержащий вставку А, приводящую к сдвигу рамки считывания.

Учитывая то, что именно комплекс SD-VG играет одну из основных регуляторных функций не только в формировании крыла дрозофилы, но и в ряде других важнейших метаболических процессов, будучи звеном ключевых генетических сигнальных путей, похоже, нами впервые были найдены доказательства существования направленной наследственной изменчивости в рамках функционально связанных генов.

После введения мутации по гену *vg* в гетерозиготном состоянии в линию, претерпевающую в дальнейшем длительный направленный отбор, нами трижды было зафиксировано появление мутации *scalloped*. Причём, для линии *Bar vg⁺/vg sv2* - неоднократное.

Стоит отметить, что к 402-му поколению отбора в линии *Bar vg⁺/vg sv2* особи с генотипом *vg⁺/vg⁺* составляли только 1,4% от общей выборки. Мутация, вызванная вставкой аденина в локусе *scalloped*, была обнаружена в 420-м поколении отбора у всех особей, предоставленных для анализа.

Ген *vg*, рассматриваемый в комплексе со *sd*, относится к поле-специфичным селекторным генам, т.е. его продукты обладают уникальной способностью управления формированием целостных сложных структур. Изначально появилась концепция морфогенетического поля, обособленного участка клеток в эмбрионе, дающего начало отдельной структуре. Открытие генов, продукты которых контролируют развитие и своеобразие (специфичность) разнообразных «полей», обозначенных как «гены селекторы», позволило признать и переопределить «поля» как обособленные зоны активности генов селекторов. Два варианта селекторных генов представляли наибольший интерес для развития понимания эмбриональных полей: Нох-гены (их продукты отвечают за особенности гомологичных полей) и поле-специфичные селекторные гены (*eyeless*, *Distal-less* и *vestigial-scalloped*).

Ген *vg* представляет собой узел в генной регуляторной сети крыла, в которую входят как гены-контролеры, так и гены, отвечающие за развитие различных, образующих крыло элементов (в соответствии с рисунком 35) [6].

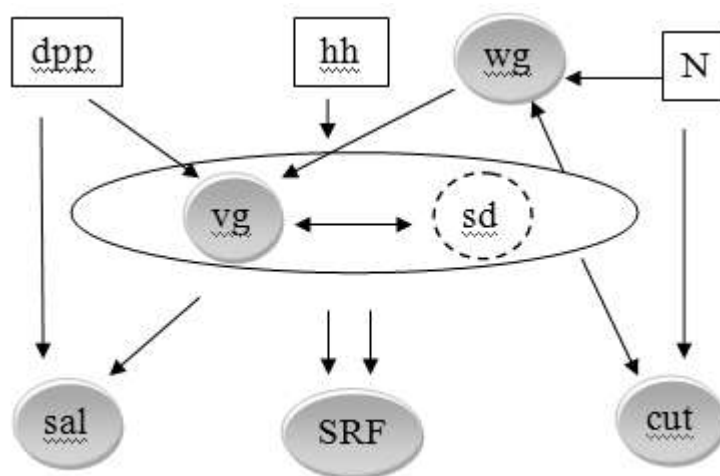


Рисунок 35 - Схема части генетической регуляторной сети в крыловом диске, включающая сигнальные пути и гены-мишени (выделены серым) (Guss K.A. et. al., 2001).

Сайты cut, sal и vg – все являются крыло-специфичными цис-регуляторными элементами, содержащими специфические последовательности ДНК, с которыми может связываться SD.

Комплекс Vg-Sd обеспечивает крыло-специфичный ответ генов-мишеней на сигнальные пути [6].

Было показано, что редукция функции sd понижает или элиминирует экспрессию белков Cut и Wingless и генов-репортеров, находящихся под контролем sal, а также квадрантовых энхансеров vg. Данные результаты демонстрируют клеточно-автономную потребность в функции гена селектора для экспрессии этих генов в крыловом поле.

В оставшейся части гена имеются дополнительные замены, вставки и выпадения нуклеотидов. Однако уже описанное нарушение, приводящее к сдвигу рамки считывания последовательности, несомненно, является ключевым для анализа взаимодействия генов vg и sd.

2.5.4. Исследование явления скрытой наследственной изменчивости в ходе создания межлинейных гибридов от скрещивания линий дикого типа на *vestigial*

На 2 этапе работы мы продолжили опыты по длительному отбору, в которых было обнаружено появление наследственных изменений. Также нами был получен ряд линий, которые могут быть использованы для последующих исследований по изучению возможных механизмов, лежащих в основе генотипической адаптации.

Для выбора наилучшей модели для изучения данного явления, опыты проводились с использованием следующих экспериментальных линий, гетерозиготных по гену *vestigial* (Межлинейные гибриды «дикий тип» x vg):

- 1) ♀ Судак : ♂vg (до F36)
- 2) ♀ vg : ♂Oregon R (до F30)
- 3) ♀Крым : ♂vg (до F20)
- 4) ♀БИОС III : ♂vg (до F20)
- 5) ♀Белгород : ♂vg (до F20)
- 6) ♀МММ : ♂vg (до F6)
- 7) ♀Host : ♂vg (до F36)
- 8) ♀vg : ♂Canton S (до F36)
- 9) ♀Челябинск : ♂vg (до F6)
- 10) ♀Canton S: ♂Barvg (до F24)
- 11) ♀Canton S: ♂vg (до F25)

Частота встречаемости повреждений крыла на начальных этапах отбора в значительной мере определяется индивидуальными особенностями изучаемой линии дикого типа. Наибольшие значения в F₁ были обнаружены в опытах с использованием

самки линии дикого типа Host (10 %), тогда как при использовании линии дикого типа Крым - 0,8 %. Такого рода результаты опять же согласуются с данными французских ученых лаборатории Goux, когда частота встречаемости повреждений крыла, среди 18 линий дикого типа, претерпевала изменения от 0,2 % до 75 % [7]. Так же, подобно тому, как наблюдал Goux в своих экспериментах, результаты реципрокного скрещивания осуществленного нами, позволили обнаружить существенные различия, а именно в тех случаях, когда мутантная линия *vg* выступала в качестве материнской формы, частота встречаемости повреждения крыла в F_1 была существенно выше. Исходя из наших результатов, в ходе отбора прослежено закономерное увеличение частоты встречаемости повреждений крыла во всех изученных нами линиях дрозофилы.

Практически к 7-8 поколению отбора, наблюдаемые межлинейные различия по частоте встречаемости повреждений крыла начинают нивелироваться. Это означает, по-видимому, что первоначальные стрессовые факторы, которые обнаружили межлинейные различия у линии дикого типа, например, на уровне активности ферментов, на последних стадиях отбора уже не играют решающую роль. А в качестве мощного стрессового фактора начинает выступать инбридинг за счет жесткого отбора. Поставщиком изменчивости в данном случае может служить комбинативная изменчивость на уровне хромосом линии дикого типа и мутантной линии *vg*. Во всяком случае, в литературе имеется указание на то, что мутантный ген *vg* в ходе рекомбинации хромосом с линией дикого типа демонстрирует существенные изменения своей экспрессивности, в том числе, по-видимому, и уровня апоптоза клеток в имагинальном диске.

В ходе длительного направленного отбора на частоту встречаемости повреждения крыла типа «вырезка», осуществлённого нами на линии Bar sv2, нами было получена спонтанная мутантная линия *sd*. Факт существования этой мутации в данной линии подтверждён нами как генетическими, так и молекулярно-биохимическими методами анализа [8]. Возникает вопрос: эта спонтанная мутация возникла *de novo* или является результатом, так называемой, скрытой наследственной изменчивости? Именно этому и посвящён один из разделов отчёта. С этой целью, точно так же, как в своё время в 1973 г. Goux, мы осуществили серию скрещиваний мутантной линии *vg* с 10-ю линиями дикого типа с последующим отбором на частоту встречаемости повреждения крыла в ряду поколений. К настоящему времени 5 линий межлинейных гибридов претерпели около 40 поколений отбора.

В ходе работы были обнаружены чёткие биохимические различия, судя по частоте появления вырезов на крыле, у различных линий дикого типа. Максимально значение

частоты встречаемости повреждения крыла в F1 были прослежены нами у межлинейных гибридов Host x vg – 10%, минимально – у Крым x vg.

Реципрокное скрещивание позволяет обнаружить несущественное различие по данному показателю. Общая тенденция в частоте появления повреждения крыла типа «вырезка» в ходе длительного отбора позволяет прослеживается в следующем: во всех линиях, взятых для эксперимента, отбор эффективен, хотя и происходит с различной скоростью для отдельных линий, а межлинейные различия по данному показателю постепенно нивелируются, достигая к 20 поколению 70-80%.

В ходе увеличения частоты встречаемости повреждения крыла, пространственная картина повреждения у большинства межлинейных гибридов оказывается сходной. А именно, начиная с первого поколения, апоптоз захватывает преимущественно дистальную часть крыла в области 1-й, 2-й задних ячеек и субмаргинальной, редко повреждая маргинально и 3-ю заднюю ячейку, подобно тому, что мы наблюдали в исходной линии Bar sv2. Тем не менее, в ряду межлинейных гибридов нами были обнаружены примеры повреждения крыла, которые явно не укладываются в рамки прежних представлений о динамике пространственной картины повреждения. Это даёт основания высказать предположение, что в данном случае речь может идти о, так называемой, скрытой наследственной изменчивости, проявления которой уже в 1-х поколениях отбора спровоцировано мутацией vg в гетерозиготном состоянии. Наиболее чётко это было прослежено нами у межлинейного гибрида от реципрокного скрещивания Oregon-R x vg. В обоих вариантах этого скрещивания уже во втором поколении отбора, наряду со стандартными крыльями, демонстрирующими повреждение крыла в дистальной части, были обнаружены особи, крылья которых имели стреловидную форму. Такие особи были изучены нами в линии ♀ vg : ♂ Oregon R вплоть до 20 поколения отбора, несмотря на то, что в каждом поколении нами отбирались особи со стандартной картиной повреждения крыла. Подобное явление выщепления особей со стреловидной формой крыла нами было обнаружено в 2-х отдельных повторностях, осуществлённых на протяжении последних 2-х лет. Было выделено 2 линии особей со стреловидной формой крыла: Стреловидные-1 и Стреловидные-2. Линия Стреловидные-1 претерпела к настоящему времени около 60 поколений отбора, Стреловидные-2 – 35 поколений отбора. Особенность обеих линий Стреловидные 1,2 состоит в том, что нам до сих пор не удалось получить их в чистом виде. При скрещивании на себя в обоих случаях мы получаем расщепление:

1 нормальные крылья : 2 стреловидные крылья : 1 vestigial.

Особи с нормальными крыльями, в свою очередь, могут быть подвержены деформации за счёт обширных вырезок, как правило, на задней части крыла, обнаруживая

при этом высокий уровень флуктуирующей асимметрии. В настоящее время, идут исследования по изучению генотипического состава этих линий и характера наследования «стреловидности».

Следует также отметить, что стреловидные крылья линии №1 и №2 несколько отличаются по своей морфологии, и эта специфика сохраняется на протяжении всех опытов по отбору.

В опытах по длительному отбору, осуществлённых нами в 2009 году, с использованием линии *Canton-S x vg*, нами уже в 3 поколении были обнаружены единичные особи с очень сильно деформирующими крыло повреждениями (линия названа нами *Super-Lux*). Эти повреждения охватывали, фактически, все ячейки дистальной части крыла и фенотипически напоминали отдельные аллели мутации *scalloped*. В настоящее время осуществлён отбор по такому типу повреждения крыла на протяжении 60 поколений. Также как и в случае линии Стреловидные, нам не удалось выделить в чистом виде линию *Super-Lux*. Незначительно количество особей *vg* в гомозиготе всё-таки выплывает. Экспрессия проявления повреждения крыла данного типа в значительной мере зависит от температуры культивирования. Чем выше температура, тем сильнее деформировано крыло, и среди длиннокрылых мух частота деформации может составить 100%. В настоящее время ведутся исследования по локализации и установлению природы этого явления. Интересно отметить, что во второй, повторной серии экспериментов, мы данного явления не обнаружили.

Наши данные в отношении появления уже во 2-3 поколениях отбора у межлинейных гибридов с использованием линий дикого типа, показывают, что сам факт существования скрытой наследственной изменчивости вполне реален и может быть выявлен с помощью биохимического стресса. Последний, в случае данных экспериментов, обусловлен введением мутации *vg*, с учётом её регуляторной функции и вызываемых ей биохимических нарушений.

Дальнейшие эксперименты с использованием гелданомицина, аналогично тому, что было осуществлено Rutherford и Linquist [9], помогут внести ясность в вопрос, возникает ли мутация *scalloped de novo* в исследуемых нами линиях дрозофилы.

2.5.5. Анализ полученного экспериментального материала, установления возможных источников, лежащих в основе генетической ассимиляции на молекулярном уровне.

Ознакомление с литературными источниками, касающимися явления генетической ассимиляции, позволяют высказать предположение, что конкретные механизмы, лежащие в основе этого явления, до сих пор остаются мало понятными. Ясно только одно, что в основе

этого явления лежит целый ряд процессов, относящихся к биохимическому уровню анализа. Кроме того, проанализировав современное состояние исследований по данной теме, у нас создалось впечатление, что во всех случаях успешной ассимиляции отбор имеет дело с какими-то, уже наследственно обусловленными первопричинами не явно выраженного характера. Лишь только в ходе направленного отбора (а это и является необходимым условием для успешной ассимиляции) в результате генетического поиска формируются и реализуются молекулярно-биохимические процессы, ведущие к ассимиляции изучаемого признака.

В нашем случае, можно считать удачным выбор исходного признака, по которому осуществлялся направленный отбор. Речь идёт о запрограммированной гибели клеток (апоптозе), которая в нашем случае морфологически характеризуется как повреждение крыла типа «вырезка». Как известно, апоптоз базируется на различных молекулярно-биохимических процессах, взаимная стимуляция которых вполне вероятна. Таким образом, создаётся впечатление, что в ходе отбора первоначальные процессы, лежащие в основе апоптоза, могут последовательно замещаться другими на последующих этапах, обнаруживая при этом различную генетическую основу. Собственно говоря, это мы и наблюдали в ходе экспериментов по длительному отбору.

Хотя непосредственно молекулярно-биохимических исследований по изучению механизмов апоптоза мы в данной работе не осуществляли, тем не менее, полученные экспериментальные результаты позволяют косвенно судить о процессах, лежащих в основе генетической ассимиляции.

На первом этапе, как показали наши исследования по межлинейной гибридизации с 10-ю линиями дикого типа, генетическая ассимиляция базируется на биохимических особенностях родительских линий. Как было показано в аналитическом обзоре 1 этапа, линии дикого типа отличаются наличием фермента гипоксантил гуанин-фосфорибозил трансферазы, повышенное содержание которой может вызвать апоптоз даже у линии дикого типа, а также в линии *Bar*. Наличие у межлинейных гибридов мутации *vestigial* в гетерозиготном состоянии, которое ведёт к изменению содержания данного фермента, выступает как стрессирующий фактор, на фоне которого и осуществляется отбора на повышение частоты повреждения крыла. Это особенно чётко проявляется не только на уровне достаточно быстрого увеличения частоты встречаемости повреждения крыла, но и на уровне изнеспособности гибридных форм. Интересно отметить, что, судя по генетическим исследованиям, только гетерозиготы по мутации *vg* несут повреждения крыла. На более поздних этапах отбора, когда частота повреждения крыла может превысить 90%, при изучении жизнеспособности в отношении частоты встречаемости

эмбриональных леталей, обращает на себя внимание тот факт, что данный показатель превышает 20%. Как известно, в своей основе поздние эмбриональные летали возникают в результате хромосомных аномалий. И это является косвенным свидетельством того, что в изучаемой линии мы прослеживаем появление нового фактора, влияющего на частоту повреждения крыла.

Судя по литературным данным, таким фактором может служить наличие мобильных генетических элементов. Мы в данном исследовании не осуществляли поиск мобильных генетических элементов (МГЭ) молекулярно-генетическими методами, однако появление таких спонтанных мутаций, как *wight* и *yellow*, обнаруженные нами, может служить косвенным доказательством в пользу наличия мобильных генетических элементов. Как известно, обе эти мутации обязаны в почти 80% случаях действию МГЭ.

На более поздних этапах отбора методами генетического анализа примерно с 90 поколения отбора было обнаружено присутствие новой спонтанной мутации *scalloped*, наличие которой было подтверждено секвенированием последовательности данного гена. Остаётся неясным вопрос, какими механизмами обусловлено появление спонтанной мутации *sd* в ходе длительного отбора у гетерозигот по мутации *vg*. Вполне возможно, что локус *scalloped*, подобно локусам *white* и *yellow*, является «горячей точкой» для МГЭ исходно или становится таковой в ходе отбора. Тогда появление спонтанной мутации *sd* вполне объяснимо с позиций современных представлений о роли МГЭ. Вполне возможно также, что в основе спонтанного появления мутации *sd* лежат иные, более сложные процессы, связанные с каскадным характером взаимодействия функционально тесно связанных генов *vg* и *sd*.

3. Отчет по обобщению и оценке результатов исследований.

Обобщая результаты исследования, можно сказать, что в ходе данной работы удалось разработать удобную модель для использования в качестве биологической тест-системы исследования эффекта стресса химической и физической природы. Эта модель включает в себя селекционное достижение – ряд линий *Drosophila melanogaster*, обладающих повышенной чувствительностью к химическому стрессу и рентген облучению. Также в неё входит 2 метода оценки биологического эффекта стресса, заявка на один из которых находится в стадии рассмотрения.

1) метод комплексной оценки жизнеспособности дрозофилы и метод определения неоплодотворённых яиц дрозофилы (заявка на патент №2010119469 от 14.05.2010),

Изобретение относится к области биохимии, касается методов оценки жизнеспособности дрозофилы и может быть использовано, в частности, в фундаментальных исследованиях по клеточной биологии, а также прикладных медицинских, вирусологических исследованиях, для биологического тестирования качества пищевой, косметической промышленности и мониторинга окружающей среды.

Drosophila melanogaster довольно часто используется как тест-система для изучения биологических последствий, в том числе и на биохимическом уровне, различных по своей природе антропогенных факторов. Эти факторы могут быть как химической, так и физической природы. В этом случае необходимо дать всестороннюю оценку их влияния на эмбриональном и постэмбриональном этапе онтогенеза. Как правило, в основе мутагенного и тератогенного эффекта лежат биохимические процессы, характер протекания которых претерпевает существенные изменения в ходе всего периода развития. Ранее использованные методики не позволяли представить целостную картину нарушений жизнеспособности, отражающую специфику воздействия изучаемого фактора.

Предложенный метод представляет собой комплексный метод оценки жизнеспособности дрозофилы. Метод позволил рассчитывать индивидуальную плодовитость для отдельной пары мух, более точные средние показатели плодовитости дрозофил по дням эксперимента и средние показатели плодовитости для всего периода, обнаружить процент стерильных особей, варьирование продолжительности откладки яиц у отдельных особей (у доли самок откладка яиц может прекращаться раньше или позже, чем в контрольном эксперименте).

При использовании дрозофил для изучения влияния химического или физического фактора (например, лекарства или облучения) на биологические объекты данный способ

оценки жизнеспособности дает возможность получения за счет большего объема данных более полного представления о специфике влияния этих факторов на объект исследования.

2) метод анализа морфометрической изменчивости крыла.

Метод является достаточно чувствительным и позволяет регистрировать различия даже при постепенных неявных изменениях морфометрических соотношений крыла дрозофилы в ходе длительного направленного отбора, позволяет выявлять наиболее изменчивые морфометрические показатели, степень отличия выборок мух, в зависимости от силы влияния на них определённого фактора (химической, физической природы, а также отбора). Метод даёт возможность сравнивать экспериментальные данные по нужным исследователю параметрам – в зависимости от линии экспериментального материала, от поколения, от пола, определять разницу в изменениях соотношений по линейным и двумерным характеристикам крыла, анализировать степень изменения в дистальной (более новой) и базальной (древней) частях крыла дрозофилы (так как есть возможность сравнения по отдельным группам ячеек поверхности крыла).

Использование 24-х параметров и общей площади крыла позволяет комплексно охарактеризовать морфометрические изменения в крыле, что, в свою очередь, является последствием совместного действия процессов апоптоза, регуляции площади клеток крыла, задержек или ускорений в развитии крыла на различных стадиях онтогенеза.

Морфометрический анализ структуры крыла, широко используемая в наших экспериментах, позволяет распознать на уровне дифференцировки скрытые процессы перестройки генома.

Алгоритм, опробованный в данной работе, позволяет фиксировать количественно и качественно процесс генетического поиска. Наши исследования по длительному направленному отбору на повышение уровня апоптоза (частоту встречаемости повреждения крыла типа «вырезка», а следовательно на активность экспрессии фермента дигидрофолатредуктазы) в линии *Bar x vg* на протяжении 430 поколений отбора и её сублиниях позволяют проследить определенную последовательность в становлении спонтанных мутаций, затрагивающих структуру крыла. Этот показатель позволяет дать количественную и качественную оценку происходящего процесса и проследить его динамику в ходе направленного отбора. Этот же алгоритм использовался нами при разработке модельных экспериментальных линий дрозофилы для изучения последствий химического и физического стресса.

Судя по предварительным данным, наиболее эффективный генетический поиск обнаруживается в модельных системах с изначально нарушенным метаболизмом на уровне синтеза предшественников ДНК не только у мутантных, но и у некоторых линий дикого

типа. Отбор осуществляется на провокационном фоне, созданном в результате межлинейных скрещиваний с использованием мутации *vestigial*. Этот ген обладает ярко выраженной регуляторной функцией, обладает плеiotропным эффектом, оказывает существенное влияние на синтез ДНК, что многократно подтверждено литературными источниками. Кроме того, ген *vestigial* в достаточно выраженной степени влияет на синтез белка, что было показано в нашей лаборатории в 70-е гг. (Назаров А.К., Марвин А.М., 1975-1977гг.).

Неоднократно зафиксированное нами появление спонтанной мутации *scalloped* в процессе реализации описанного алгоритма исследований, свидетельствует о его пригодности для выявления функционально связанных генов и степени их взаимного влияния.

4. Публикации результатов НИР.

Заключение экспертной комиссии

Справка о том, что будет опубликована в №8

Лопухова Н.Н., ГОУ ВПО УрГУ им. А.М. Горького, зав. научно-исследовательской лабораторией по изучению влияния пестицидов
Марвин А.М., ГОУ ВПО УрГУ им. А.М. Горького, доцент, к.б.н.

Давиденко К.А., ГОУ ВПО УрГУ им. А.М. Горького, инженер-исследователь НИЧ

Крысова Л.В., ГОУ ВПО УрГУ им. А.М. Горького

Антосюк О.Н., ГОУ ВПО УрГУ им. А.М. Горького, лаборант-исследователь НИЧ

Нестабильность генома *Drosophila melanogaster* в условиях химического стресса на примере эффекта пиретроида децис

Активное использование пестицидов в сельском хозяйстве привело к тому, что они фактически стали новым фактором среды, с которым организмы не сталкивались в ходе своей эволюции. Необходимо знать и учитывать их влияние на процессы, протекающие в биосфере, контролировать содержание остаточного количества в среде для предотвращения вредного воздействия на природу и здоровье человека. В последнее время важное значение приобретают исследования по изучению механизмов выработки устойчивости насекомых к пестицидам в ряду поколений. В основе этого процесса лежит явление генетической ассимиляции [1].

В последние десятилетия для борьбы с насекомыми-вредителями все шире применяют синтетические пиретроиды как на сельскохозяйственных полях, так и на садовых участках. Децис – один из самых популярных среди них. Большинство из пиретроидных инсектицидов средне- и малотоксичны для теплокровных. Некоторые, например, децис, относятся к высокотоксичным: СД₅₀ для крыс составляет 40-2000 мг/кг. Пиретроиды высокотоксичны для рыб [2,3]. Децис и цимбуш оказывают раздражающее действие на кожу и слизистые оболочки.

Пиретроиды – инсектициды контактно-кишечного действия. Биологическая активность их на порядок и более выше активности инсектицидов других групп [4]. Пиретроиды успешно применяют в борьбе со многими вредителями: саранчой, белокрылками, тлями, медяницами, растительноядными клопами, жуками, клещами, мухами, чешуекрылыми [5,6]. Остаточные количества пиретроидов сохраняют имагоцидную и овицидную активность в течение 24-48 часов после применения. В дальнейшем они действуют как ларвициды, а в сублетальных дозах обладают антифидантной и репеллентной активностью [7].

О влиянии химических загрязнителей окружающей среды на генетическую изменчивость в популяциях и их отдаленные последствия в потомстве до сих пор известно очень немного. При оценке токсичности инсектицидов сравнительно мало учитываются сдвиги биохимических показателей, а также отдаленные эффекты токсического действия, которые могут привести к значительным изменениям на популяционном уровне, а их

выраженность служит мерой токсичности инсектицида для полезной энтомофауны агробиоценоза.

Поскольку все пестициды являются мутагенами и в опытах на животных доказана их высокая мутагенная активность, нет сомнения, что кроме непосредственных и быстро улавливаемых последствий их воздействия должны быть и долгосрочные генетические эффекты.

Поэтому представляло интерес, используя такую модельную систему, как *Drosophila melanogaster*, которая неоднократно применялась в подобных исследованиях [8,9], изучить влияние максимальных доз синтетических пиретроидов на токсический, генотоксический и морфогенетический эффекты.

Соответственно, были поставлены следующие задачи:

1. Изучить влияние пиретроида дециса на генеративные клетки дрозофилы.
2. Проследить генотоксический эффект дециса на различных стадиях развития.
3. Изучить тератогенное влияние дециса на соматические клетки дрозофилы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения опытов на модельном объекте *Drosophila melanogaster* использовалась линия дикого типа «Север», претерпевшая свыше 60-ти поколений отбора. Каждая серия экспериментов производилась на протяжении 18 дней с использованием 24 пар мух.

Личинки дрозофил выращивались на среде Альдерстона. Вылетевшие имаго определялись по полу с помощью морфологических критериев. Отобранные виргинные самки помещались в пробирки, содержащие агаровую среду. Далее применялся комплексный анализ жизнеспособности, разработанный в лаборатории генетики УрГУ. Общее число проанализированных яиц - 29324, личинок - 4528 и куколок - 3252. Общая продолжительность опытов - 150 дней.

В серии экспериментов по определению действия синтетических пиретроидов нами были взяты 4 концентрации препарата дециса: $0,25 \cdot 10^{-2} \%$ ($0,125 \cdot 10^{-3}$ г в 5г раствора); $0,25 \cdot 10^{-3} \%$ ($0,125 \cdot 10^{-4}$ г в 5г раствора); $0,25 \cdot 10^{-4} \%$ ($0,125 \cdot 10^{-5}$ г в 5г раствора); $0,25 \cdot 10^{-5} \%$ ($0,125 \cdot 10^{-6}$ г в 5г раствора).

1) В чашки Петри заливалась среда Альдерстона по 5 мл, отмеренных центрифужной пробиркой. С помощью микропипетки в среду добавляли 30мкл дециса. После чего среда тщательно перемешивалась, и на нее поселялись особи третьего личиночного возраста. Они выдерживались сутки, после чего отмывались и переносились на обычную среду Альдерстона. 2) Отбранные личинки одного возраста помещались в чашки Петри. Ровно через 24 часа окуклившиеся личинки переносились в пробирку с

раствором дециса. Через 30 минут куколки переносились в пробирку со средой. 3) В 2мл растворенных в воде дрожжей при помощи микропипетки вносился децис. Смесь тщательно перемешивалась и переносилась в стаканчики со средой Альдерстона. Затем в эти стаканчики пересаживали имаго дрозофил на 48 часов. По истечению этого времени самки и самцы попарно помещались в пробирки.

После вылета имаго использовалась стандартная методика.

Для изучения влияния пиретроида на процессы роста и развития имагинальных тканей отбирались личинки третьего личиночного возраста из контрольной и опытной линии. Под микроскопом с помощью препаровальных игл отделялось по 25 крыловых имагинальных дисков с учетом половых различий. Аналогичным образом препарировались крылья. Их морфометрические показатели снимались по методике, принятой в лаборатории генетики (рис.1).

Рис.1. Морфометрические показатели крыла дрозофилы

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Так как линия «Север» характеризуется средними значениями плодовитости относительно других линий дикого типа и низкой частотой встречаемости доминантных эмбриональных и постэмбриональных леталей, именно она подходит для изучения эффекта изучаемого перитроида.

При постановке опытов нами было изучено воздействие дециса при различных концентрациях: $0,25 \cdot 10^{-2}\%$ (была обнаружена 100% гибель имаго, что обусловлено сильной интоксикацией особей); $0,25 \cdot 10^{-3}\%$, $0,25 \cdot 10^{-4}\%$ и $0,25 \cdot 10^{-5}\%$. Эффект воздействия дециса был прямо пропорционален используемой концентрации: чем меньше концентрация, тем менее выражен токсический эффект, а значит меньше процент смертности особей. Для изучения влияния максимальных доз дециса в последующих экспериментах использовалась концентрация $0,25 \cdot 10^{-3}\%$. Далее нами была изучена чувствительность различных этапов развития дрозофилы к воздействию дециса: личиночного, кукольного, стадии имаго (взрослого насекомого).

Воздействие децисом на личиночной стадии развития. Анализ средней индивидуальной плодовитости (СИП) показал, что особи обладают ярко выраженной индивидуальной чувствительностью, хотя и в меньшей степени, чем в контроле. Это можно объяснить тем, что под влиянием дециса, еще до вылета имаго, особи прошли естественный отбор на провокационном фоне на стадии поздней личинки и всего периода куколки. Частота встречаемости неразвившихся яиц в два раза превышает контроль. Это увеличение происходит за счет ранних эмбриональных леталей (РЭЛ) и неоплодотворенных яиц (НО).

Частота встречаемости поздних эмбриональных леталей (ПЭЛ) почти не отличается от контроля. Частота встречаемости личиночных леталей в пять раз, а частота куколочных леталей в три раза превышает значение контроля (Таблица 1).

Воздействие децисом на стадии куколки. Наибольшая плодовитость наблюдалась во 2-й день опыта, что отличается от контрольной линии. СИП в полтора раза меньше значения контроля. Особи демонстрируют крайне низкие значения плодовитости, а коэффициент вариации (C_v) наибольший. Интересно отметить, что к 6-му дню опыта более половины особей изучаемой популяции мух погибли. Частота встречаемости неразвившихся яиц и личиночных леталей в два с половиной раза превышает значение контроля. Частота возникновения куколочных леталей превысила соответствующее значение контроля в три раза (Таблица 1).

Воздействие децисом на стадии имаго. Наибольшая плодовитость соответствовала 5 дню опыта, уступая по этому показателю контрольной линии. Это особенно четко проявляется при сравнении СИП, который в опыте в 2 раза меньше, чем в контроле. Отдельные особи демонстрируют крайне низкие значения плодовитости. Таким образом, линия мух, подвергнутая воздействию пиретроида, демонстрирует высокий уровень генетически обусловленной чувствительности и генетической гетерогенности к данному реагенту. Можно высказать предположение, что более чем двукратное увеличение частоты возникновения РЭЛ и НО в нашем случае обусловлено ростом количества неоплодотворенных яиц, то есть, по-видимому, децис влияет на эндокринную систему, вызывает стерильность особей и в первую очередь стерильность самцов. Частота личиночных леталей превышает соответствующее значение контроля почти в 7 раз. Таким образом, эффект дециса проявляется и в период личиночного развития, то есть имеет пролонгирующий эффект. Частота встречаемости куколочных леталей составила 1% и не отличается от контроля.

Таким образом, в результате воздействия децисом на различных стадиях онтогенеза, его токсический, мутагенный и тератогенный эффекты проявляются на всех этапах индивидуального развития дрозофил, что четко видно при сравнении с контролем.

Влияние дециса на соматические клетки дрозофилы

Использование дрозофилы как модельной системы позволяет также изучить влияние дециса на процессы роста, развития и дифференцировки будущих структур имаго, в частности имагинальных дисков. Рост и развитие крылового диска находится под гормональным контролем и его площадь в значительной мере обусловлена продолжительностью личиночного периода развития [10]. Поэтому с целью изучения влияния дециса на перечисленные процессы нами был осуществлен не только анализ

площади крылового диска позднего третьего личиночного периода, но и морфометрии крыла имаго, как в контроле, так и при воздействии децисом.

Измерение площади дорзального мезоторакального диска в контрольной линии и после обработки децисом не обнаружило статистически достоверных различий.

В ходе обработки децисом длина крыла с учетом половых различий не претерпевает существенных изменений после воздействия на разных стадиях онтогенеза. По остальным изученным нами морфометрическим показателям обнаружено статистически достоверное уменьшение, и в первую очередь, в отношении площади крыла. Таким образом, используемый пиретроид оказывает влияние не только на процессы роста и развития будущих органов имаго (в частности крыла), но и на процессы дифференцировки.

Полученные результаты позволяют высказать следующее предположение: наиболее значимые процессы морфогенеза крыла, по-видимому, протекают в период предкуколки и ранней куколки. Данные наблюдения хорошо согласуются с литературными данными по изучению цитологической картины детерминации и дифференцировки крыла [11].

Косвенным доказательством высказанного нами предположения являются случаи обнаружения повреждения крыла в виде «вырезов», которые возникают с частотой 0,6% в случае воздействия децисом на куколок и 2,5% в первом поколении при обработке имаго. Кроме того, в изученной нами выборке была обнаружена особь по фенотипу *hemi thorax*. У этой особи отсутствует левая половина спины вместе с крылом. Как известно такого типа особи появляются в результате полного разрушения дорзального мезоторакального диска на соответствующей стороне тела.

В целом, относительно плодовитости самой чувствительной для воздействия децисом является стадия куколки (рис.2); относительно частоты встречаемости доминантных эмбриональных леталей – стадия личинки (рис.3); для величины постэмбриональных леталей – стадия имаго (рис.4). Что касается морфометрического анализа крыла, то наибольшие отличия от контроля наблюдаются при воздействии пиретроида на стадии имаго (рис.5).

Рис.2. Биологический эффект дециса при воздействии на различных стадиях онтогенеза в отношении средней плодовитости для линии «Север».

Рис.3. Биологический эффект дециса при воздействии на различных стадиях онтогенеза в отношении частоты встречаемости доминантных эмбриональных леталей, линия «Север».

Рис.4. Биологический эффект дециса при воздействии на различных стадиях онтогенеза в отношении частоты встречаемости постэмбриональных леталей, линия «Север».

Рис.5. Результаты дискриминантного анализа 24-х морфометрических параметров крыла дрозофилы при воздействии децисом на различных стадиях онтогенеза, линия «Север».

Полученные нами данные позволяют сделать следующие выводы:

1. Децис в пределах используемых концентраций оказывает значительное влияние на репродуктивную систему дрозофил, уменьшая уровень плодовитости и увеличивая частоту встречаемости эмбриональных и постэмбриональных леталей.

2. Стадия имаго у *Drosophila melanogaster* является наиболее чувствительной к тератогенному эффекту дециса по результатам сочетания анализа морфометрии крыла и жизнеспособности.

3. Опробированные нами методы позволяют использовать *Drosophila melanogaster* как тест-систему для изучения биологического эффекта пиретроидов на уровне генеративных и соматических тканей.

1. Bertschmann M. Versuche zur phänokopierenden Wirkung von Chemikalien (Nitrogen-Mustand u. a. bei *Drosophila melanogaster*) // Zeitschrift für induct. Abstammungs und Vererbungslehre. 1955. Bd. 87. S. 229-266.
2. Мельников Н.Н., Аронова Н.И. Поведение синтетических пиретроидов в объектах окружающей среды // Агрохимия. 1987. №9. С.109-131.
3. Мельников Н.Н. Экология и пестициды // Агрохимия. 1989. №10. С.128-141.
4. Петрушов А.З. Пиретроидные инсектициды // Агрохимия. 1984. №6. С.121-126.
5. Седых А.С., Абеленцева Т.М., Креминская Т.И. Инсектоакарицидная активность пиретроидных препаратов // Агрохимия. 1987. №2. С.129-143.
6. Dadachanji H.J., Patil V.L. Synthetic pyrethroides – role in Indian agriculture // Pesticides, 1983. Annu. p.42-46.
7. Agarwal R.A., Gupta G.P., Tripathi R.S. Synthetic pyrethroides: agricultural applications. // Pesticides, 1983. Annu. p.38-64.
8. Wilson T. *Drosophila melanogaster* (Diptera, *Drosophila*). A model insect for insecticide resistance studies // J.econ. Entomol. 1988. Vol.81.№1. p.22-27.
9. Ascher K.K., Eliyahy M., Nemny N., Ishaaya I. The toxicity of synthetic pyrethroids and other insecticides and pesticides to *Spodoptera littoralis*, *D. melanogaster*, *Bemisia tabaci* // Zutrern.Resf.Control. 1986. Vol. 28. №3. p.68-78.
10. Сингер М., Берг П. Гены и геномы // М.: Мир, 1998. Т.2. С.115-124.
11. Goldschmidt R. The nonhereditary KN-effect in *Drosophila* // Univ. Cal. publ. Zool., 1937. 41. p.313-326.

Заключение

На 2 этапе НИР, в соответствии с заявленной проблемой «Молекулярно-генетические основы онтогенетической и генотипической адаптации у *Drosophila melanogaster*», были усовершенствованы методы оценки результатов генетической ассимиляции на уровне морфологической изменчивости крыла. Произведён переход на более современные методы анализа морфометрии крыла, а именно: аналитическую и статистическую обработку цифровых фотографий крыла, при этом разработан способ сопоставления со стандартной методикой анализа морфометрии. Также осуществлено создание и применение рабочих моделей (линий *Drosophila melanogaster*) для изучения влияния стрессов химической и физической природы как источников наследственной изменчивости в ходе генетической ассимиляции. В качестве основного показателя пригодности модели взята частота повреждения крыла типа "вырезка" (результат апоптоза). В ходе генетической ассимиляции в линиях, гетерозиготных по гену *vestigial*, установлено наличие взаимодействия на молекулярном уровне продуктов генов *vestigial* и *scalloped*, фенотипическим проявлением которого является обнаружение спонтанной рецессивной мутации *scalloped* (*sd*).

В ходе создания межлинейных гибридов от скрещивания линий дикого типа на *vestigial*, обнаружено явление скрытой наследственной изменчивости. Благодаря методам, использованным в работе, дана качественная и количественная характеристика процесса генетической ассимиляции, обнаруженного в ходе исследований. Морфометрия крыла, широко используемая в наших экспериментах, позволила распознать на уровне дифференцировки скрытые процессы перестройки генома.

Нами был проанализирован полученный экспериментальный материал и установлены возможные источники, лежащие в основе генетической ассимиляции на молекулярном уровне. Произведён анализ и обобщение полученных экспериментальных и теоретических результатов исследований, сделана оценка полноты решения задач и сопоставление данных с современным научно-техническим уровнем по направлению «Физико-химическая молекулярная и клеточная биология». Составлен научный отчет. Подготовлена 1 публикация в ведущий научный журнал, 1 публикация во всероссийской конференции, материалы которой принимаются ВАК, 2 публикации в международный конференции и тезисы в международной конференции со ссылкой на проведение НИР в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы.

Алгоритм, опробованный в данной работе, позволяет фиксировать количественно и качественно процесс генетического поиска, что само по себе является полезным вкладом в изучение данного процесса. Качественная и количественная характеристика генетического поиска (генотипической адаптации) в наших исследованиях была обеспечена за счёт удачного выбора основного фактора стресса – длительного направленного отбора, а также признака, по которому производился отбор – повреждения на крыле. Так как выбранный вид повреждения крыла дрозофилы напрямую связан с интенсивностью протекания апоптоза в онтогенезе, а также с синтезом фермента дигидрофолатредуктазы, ответственного за репликацию ДНК и пролиферацию клеток, наши исследования по длительному направленному отбору на повышение частоты встречаемости повреждения крыла типа «вырезка» позволяют проследить определенную последовательность в становлении спонтанных мутаций, затрагивающих структуру крыла. Кроме того, исследования, проведённые на 1 этапе НИР, позволяют сделать вывод о том, что предложенная нами методика изучения генотипической и онтогенетической адаптации является универсальной. Этот же алгоритм использовался нами при разработке модельных экспериментальных линий дрозофилы для изучения последствий химического и физического стресса.

Обнаруженная на 2 этапе НИР функциональная связь генов *vestigial* и *scalloped*, впервые демонстрировалась подобным образом в научных исследованиях. В результате использования описанного выше алгоритма создания генетического стресса, в линии дрозофилы, несущей мутацию по гену *vestigial* в гетерозиготном состоянии, неоднократно была получена спонтанная мутация *scalloped*. На 2 этапе работ по проекту удалось подтвердить присутствие мутации гена *scalloped* на молекулярном уровне, а также уточнить, какие именно нарушения в последовательности нуклеотидных оснований данного локуса вызвал длительный отбор в присутствии мутации по гену *vestigial*.

Это позволяет нам высказать гипотезу о наличии направленной наследственной изменчивости в рамках функционально связанных генов, а также предложить способ создания эффективного генетического стресса для изучения подобных взаимосвязей.

Исследование эффекта химического и физического стресса на разработанных на 2 этапе НИР экспериментальных моделях, позволяет анализировать процесс онтогенетической адаптации. По итогам полученных данных, можно говорить о применимости созданных моделей оценки онтогенетической адаптации, их чувствительности и возможности использования в качестве тест-систем.

В частности, полученные в результате исследования эффекта химического стресса данные, позволяют сделать вывод о том, что цитостатики, в частности, аминоптерин, могут

быть использованы при изучении онтогенетической адаптации с использованием разработанных нами методов.

Учитывая то, что дрозофила входит в число модельных систем для мониторинга антропогенных экологических факторов, оценка жизнеспособности, с учётом наших дополнений, позволяет наиболее полно выполнять эту задачу.

Результаты наших теоритических и экспериментальных исследований, полученные в ходе исследования онтогенетической адаптации на 2 этапе НИР, позволяют предложить использование разработанных моделей (линий дрозофилы) для тестирования противораковых препаратов в плане их эффекта на цитологическом уровне.

Список используемых источников

1. Fristrom D. Cellular Degeneration in the Production of some Mutant Phenotypes in *Drosophila melanogaster*.// Molec. Gen. Genetics, 1969, v. 103, p. 363-379
2. R. Delanoue, K. Legent, N. Godefroy, D. Flagello, A. Dutriaux, P. Vaudin, J.L. Becker and J. Silber. The *Drosophila* wing differentiation factor Vestigial–Scalloped is required for cell proliferation and cell survival at the dorso-ventral boundary of the wing imaginal disc // Cell Death and Differentiation, 2004. №11. P:110-122
3. Halder G., Carrol S.B. Binding of the Vestigial co-factor switches the DNA-target selectivity of the Scalloped selector protein // Development, 2001, № 128. p. 3295-3305.
4. Bender W., Spierer P., Hogness D. S. 1983. Chromosomal walking and jumping to isolate DNA from the *Ace* and *rosy* loci and the bithorax complex in *Drosophila melanogaster*. J. Mol. Biol. 168 : 17—33.
5. Birnboim HC, Doly J (1979). "A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA". Nucleic Acids Res. 7 (6): 1513–23
6. Guss KA, Nelson CE, Hudson A, Kraus ME and Carroll SB (2001) Control of a genetic regulatory network by a selector gene. Science 292: 1164–1167
7. Goux J.M. Variation de la, penetrance te de la dominance an locus vestigial chez la *Drosophile* / J.M. Groux // C.R. Acad Sci, 1973 №277, P 2413-2415
8. Марвин А.М., Давиденко К.А., Марвин Н.А., Крысова Л.В., Антосюк О.Н. Длительный направленный отбор как источник наследственной изменчивости // Чарлз Дарвин и современная наука. С.-Петербург, 2010. С. 150-158
9. Rutherford S.L. Hsp90 as a capacitor for morphological evolution / S.L. Rutherford, S. Linquist // Nature. 1998 V. 396 P.336-342

Приложение А1

Динамика частоты встречаемости особей с одно- (св1) и двухсторонними (св2) повреждениями крыла в ходе направленной плюс селекции у межлинейных гибридов «линия дикого типа» x *vestigial*, линии ♀ Судак : ♂vg, ♀ vg : ♂Oregon R

♀ Судак : ♂vg без учета половых различий

♀ Судак : ♂vg без учета половых различий t° культивирования 19-20	Поколение	св(1)+св(2)	св(1)	св(2)	доля св(2) от св	Сумма	1vg:1дл
	F1	2,7	2,7	0	0	365	
	F2	7,8	4,2	3,6	46,1	1473	1:3,0
	F3	38,9	18	20,9	53,7	1040	1:4,0
	F4	47,8	15	32,8	68,6	1785	1:2,9
	F5	66,7	15,6	51,1	76,6	1932	1:2,8
	F6	66,2	10,7	55,5	83,8	3618	1:3,7
	F7*	62,6	12,8	49,8	79,5	2860	1:4,0
	F20	77,6	6,2	71,4		860	1:5,8
	F36	70,1	6,6	63,5		889	1:4,5
						10213	

♀ vg : ♂Oregon R без учета половых различий

♀ vg : ♂Oregon R без учета половых различий низк. t° культивирования 19-20	Поколение	св(1)+св(2),%	св(1),%	св(2),%	доля св(2)	Сумма	1vg:1дл
	F1	2,5	2,5	0	0	863	
	F2	8,5	4,4	4,1	48,2	2041	1:3,6
	F3	41,4	13,9	27,2	65,7	352	1:2,5
	F4	58,4	13,7	44,7	76,5	344	1:3,2
	F5	63,7	10,5	53,2	83,5	1994	1:2,8
	F6	68,2	10,2	58	85	1905	1:3,0
	F6*	50,0	18,5	31,5	63,0	304	1:3,6
	F14	88	5,6	75,2		742	1:3,3
	F20	68,2	3,7	64,5		804	1:4
	F30	71,6	4,1	67,5		213	1:8
						7499	

Приложение А2

Динамика частоты встречаемости особей с одно- (св1) и двухсторонними (св2) повреждениями крыла в ходе направленной плюс селекции у межлинейных гибридов «линия дикого типа» х *vestigial*, линии ♀Крым : ♂vg, ♀БИОС III : ♂v

♀Крым : ♂vg без учета половых различий

	Поколение	св(1)+св(2)	св(1)	св(2)	доля св(2)	Сумма	1vg:1дл
	F1	0,8	0,8	0	0	1059	
	F2	3,3	3	0,3	9	630	1:3,6
	F3	10,4	6,5	3,9	37,5	106	1:3,0
	F4	8,5	7,6	0,9	10,6	613	1:2,5
	F5	22,7	13,7	9	39,6	942	1:2,9
	F6	38,3	8,2	30,1	78,6	1955	1:2,6
	F7	44,1	16,8	27,3	62	1071	1:2,6
низк. 1 ^е культивирования 19-20	F7*	26	16,6	9,4	36,1	1263	1:2,9
	F14	70	10,3	59,7		1996	1:4
	F20	67,5	9,6	57,9		1266	1:3,6
						5305	

♀БИОС III : ♂vg без учета половых различий

	Поколение	св(1)+св(2)	св(1)	св(2)	доля св(2)	Сумма	1vg:1дл
	F1	4,4	4,4	0	0	957	
	F2	7,4	5,4	2	27	2094	1:2,8
	F3	25,7	16,3	9,4	36,5	674	1:2,2
	F4	12,4	8,6	3,8	31	267	1:3,7
	F5	21,8	15,5	6,3	29	383	1:2,9
низк. 1 ^е культивирования 19-20	F6*	24,8	11,5	13,3	53,6	256	1:2,1
	F20	58,3	19,9	38,4		384	1:5,6
						4375	

Приложение А3

Динамика частоты встречаемости особей с одно- (св1) и двухсторонними (св2) повреждениями крыла в ходе направленной плюс селекции у межлинейных гибридов «линия дикого типа» х *vestigial*, линии ♀Белгород : ♂vg , ♀MMM : ♂vg

♀Белгород : ♂vg без учета половых различий

	Поколение	св(1)+св(2)	св(1)	св(2)	доля св(2)	Сумма	1vg:1дл
	F1	1,4	1,4	0	0	1156	
	F2	22,2	12,3	9,9	44,6	1400	1:2,4
	F3	45,9	18,9	27	59	1037	1:2,6
	F4	40,1	16,2	23,9	59,6	969	1:1,7
	F5	53,8	14,8	39	72,5	679	1:2,5
	F6	61,3	14,2	47,1	76,8	1259	1:3,1
низк. f ² культивирования 19-20	F6*	47	16,6	30,4	64,7	588	1:3,4
	F14	81,6	10,9	70,7		838	1:4,7
	F20	94,7	8,6	86,1		648	1:3,4
	F25	85,1	10,4	74,3		722	1:3,3
	F30	83,4	9	74,4		2095	1:3,4
	F36	83,3	9,9	73,4		2368	1:3,7
						6500	

♀MMM : ♂vg без учета половых различий

	Поколение	св(1)+св(2)	св(1)	св(2)	доля св(2)	Сумма	1vg:1дл
	F1	3	3	0	0	1136	
	F2	25,9	15,3	10,6	41	978	1:2,5
	F3	41,4	18	23,4	56,5	1423	1:3,4
	F4	40,5	13,3	27,2	67,1	1142	1:3,4
	F5	63	9,6	53,4	84,7	564	1:2,5
	F6	66,6	9	57,6	86,5	1158	1:3,5
низк. f ² культивирования 19-20	F6*	48	13,8	34,2	71,2	1170	1:4,2
						7571	

Приложение А4

Динамика частоты встречаемости особей с одно- (св1) и двухсторонними (св2) повреждениями крыла в ходе направленной плюс селекции у межлинейных гибридов «линия дикого типа» x *vestigial*, линии ♀Host : ♂vg, ♀vg : ♂Canton S

♀Host : ♂vg без учета половых различий

Поклоение	св(1)+св(2)	св(1)	св(2)	доля св(2)	Сумма	1vg:1дл
F1	10	8,9	1,1	11	1358	
F2	27,3	15,9	11,4	41,8	1334	1:1,9
F3	44,2	19,4	24,8	56,1	2445	1:2,7
F4	46,8	15,2	30,6	65,4	2154	1:3,0
F5	44	10	34	77,3	2362	1:3,3
F6	51,5	17,2	34,3	66,6	1316	1:3,0
F14	79,3	9,5	69,8		469	1:2,9
F20	70	16,9	53,1		644	1:3,3
F25	75,8	10,7	65,1		1247	1:3,8
F30	74,1	9,2	64,9		2488	1:3,7
F36	63,4	5,8	57,6		966	1:4,2
					10969	

♀vg : ♂Canton S без учета половых различий

Поклоение	св(1)+св(2)	св(1)	св(2)	доля св(2)	Сумма	1vg:1дл
F1	4,4	4,4	0	0	585	
F2	6,4	4,5	1,9	29,7	1148	1:3,2
F14	70,6	7	63,6		1010	1:3,3
F20	68,2	13,9	54,3		958	1:3,4
F25	79	3,5	75,5		359	1:2,8
F30	68,4	5,6	62,8		1453	1:4,5
F36	66,1	9	57,1		561	1:2,8
					1733	

Приложение А5

Динамика частоты встречаемости особей с одно- (св1) и двухсторонними (св2) повреждениями крыла в ходе направленной плюс селекции у межлинейных гибридов «линия дикого типа» x *vestigial*, линии ♀Челябинск : ♂vg , ♀Canton S: ♂Barvg

♀Челябинск : ♂vg без учета половых различий

Поколение	св(1)+св(2)	св(1)	св(2)	доля св(2)	Сумма	1vg:1дл
F1	3,4	0,6	2,8	0	500	
F3	18,5	16,6	1,9		225	1:8,4
F6	55,4	5,1	50,3		224	1:6,7
					2385	

♀Canton S: ♂Barvg без учета половых различий

Поколение	св(1)+св(2)	св(1)	св(2)	доля св(2)	Сумма	1vg:1дл
F1	20,8	14,2	6,6	31,7	408	
F2	21,8	15,2	6,6	30,8	929	1:3,1
F3	25,5	12,9	12,6	49,4	3513	1:3,0
F4	55,8	24,7	31,1	55,7	660	1:3,1
F5	59,8	8,7	51,1	85,5	1010	1:3,2
F8	58,9	13,4	45,5	77,2	2924	1:3,3
F12	66,7	5,0	61,7	92,5	542	1:3,5
F24	71,5	4,8	66,7	93,3	1236	1:3,8
					11222	

Приложение А6

Динамика частоты встречаемости особей с одно- (св1) и двухсторонними (св2) повреждениями крыла в ходе направленной плюс селекции у межлинейных гибридов «линия дикого типа» x *vestigial*, линия ♀Canton S: ♂vg

♀Canton S: ♂vg без учета половых различий

	Поколение	св(1)+св(2)	св(1)	св(2)	доля св(2)	Сумма	1vg:1дл
	F1	0	0	0	0	80	
	F2	1,4	1,4	0	0	69	
	F3	0,9	0,9	0	0	219	
	F4	1,4	1,4	0	0	70	
	F5	3,5	2,6	0,6	17,1	160	
	F6	15	10,3	4,8	32	2844	1:3,0
	F9	36,3	15,6	20,7	57,0	2956	1:2,8
	F11	50,6	18,1	32,5	64,2	6363	1:3,4
	F22	87,3	11,0	76,3	87,4	3434	1:2,5
	F25	85	9,8	75,3	88,6	4212	1:2,7
низк. t° культивирования 19-20	F25*	59,4	14,2	45,2	76	1196	1:2,6
						21603	

Приложение А7

Сиквенс, соответствующий транскриптам Е и Н гена *scalloped* (Публикация в GenBank на стадии переписки с редакцией).

[illegible]

Приложение А8

Морфометрические показатели крыла линии Белгород в случае обработки дрозофил на личиночной стадии развития аминокпертином.

Аминокпертин, Белгород(самки) левое крыло

AK	AB	AI	AE	AD	AT	AM	LM	LB	MB	KB	KI	KE	KD	KF	IE	FC	MN	S	S1	S2	S3	S4	S5	S6
12,7	14,6	14,3	9,9	6,5	1,7	4,2	3,9	14,3	10,4	3,2	4	7,5	10,9	6,4	6	0,7	1,4	332	51	50	57	58	31	85
11,3	13,8	13	8,8	6,1	1,9	3,2	3	13,6	10,7	3,4	4,3	7,5	10,6	6,1	6,1	0,6	1,7	313	37	39	58	66	34	79
11,6	13,6	13,7	9,1	5,1	1,8	3,7	3,5	13,5	10	3	4,3	7,5	11,4	6,4	6,5	0,9	1,6	309	24	52	63	64	28	78
12,7	14,5	13,9	9,4	6,4	1,4	4,2	4	14,8	10,4	2,9	3,7	7,4	11,3	6,8	6	0,5	1,4	312	39	53	55	52	31	82
9,7	12,9	12,4	7,5	5,1	2,4	2,4	2,3	12,9	10,7	4	4,5	6,9	10	6	6,4	0,6	1,2	286	33	43	58	61	26	65
11,7	14,4	13,7	8,9	5,7	1,7	3,6	3,4	14,3	10,9	3,8	3,9	7,7	11,1	6,4	7	1	1,5	315	34	48	57	60	35	81
11,1	13,8	13,6	7,9	5,4	1,7	3,3	3	13,4	10,5	3,4	4,3	6,9	10,7	5,6	7	0,5	1,7	294	29	53	56	57	29	70
10,4	13,4	13,1	8,7	5,5	1,8	3,5	3,2	13,2	10	3,8	4,7	7	9,8	5,8	6	0,9	1,4	298	34	44	65	59	33	63
10,8	14,4	13,7	9,1	5,4	1,9	3,8	3,7	14,3	10,6	4,5	5	6,9	10,1	5,1	6,1	0,7	1,7	308	31	44	66	55	42	70
12,3	14,1	13,6	8,1	6	1,6	3,8	3,5	13,9	10,5	3,1	3,6	7,8	11,2	7	6,8	0,8	1,6	296	46	57	47	44	34	68
12	14,3	14	9,7	6,2	1,7	3,9	3,8	14,2	10,5	3,3	4,6	7,6	11,2	6,4	6,1	0,5	1,9	335	38	48	62	67	39	81
11,4	14,2	13,3	8,8	5,9	2,1	3,6	3,4	14,1	10,8	3,9	4,7	7,1	9,5	6,1	5,6	0,6	1,3	321	43	54	62	56	28	78
10,8	13,7	13,2	7,7	4,9	1,8	3	2,8	13,6	10,7	4	4,3	7,3	10,3	5,9	7,1	0,6	1,2	284	39	46	54	53	24	68
11,2	13,7	12,5	8,8	5,9	1,9	3,2	3	13,6	10,7	3,4	4,5	7,6	11,1	6,3	5,5	0,6	1,8	328	39	51	71	48	44	75
11	14	12,9	9,3	6,1	1,9	3,5	3,3	13,9	10,6	4,1	4,6	7,2	10,4	5,9	5,2	0,6	1,7	326	43	65	46	58	33	81
10,6	12,5	12,4	8,1	5,5	1,7	3	2,8	12,5	9,6	3,2	4	7,7	10,8	6,4	6,6	0,4	1,1	285	25	49	51	59	20	81
11,5	14,3	13,8	8,9	6,7	1,9	3,7	3,2	13,9	10,7	3,8	4,5	7,3	9,3	5,9	6,3	0,6	1,4	306	33	56	66	54	31	66
12,8	14,7	14,4	10	6,6	1,8	4,3	4	14,4	10,5	3,3	4,1	7,6	10,9	6,5	6,1	0,8	1,5	337	52	51	57	59	32	86
11,2	13,7	12,9	8,7	6	1,8	3,1	2,9	13,5	10,6	3,3	4,2	7,4	10,5	6	6	0,5	1,7	307	36	38	57	65	33	78
11,7	13,7	13,8	9,2	5,2	1,9	3,8	3,6	13,6	10,1	3,1	4,4	7,6	11,5	6,5	6,6	1	1,7	315	25	53	64	65	29	79
12,8	14,6	14	9,5	6,5	1,5	4,3	4,1	14,9	10,5	3	3,8	7,5	11,4	6,9	6,1	0,6	1,5	318	40	54	56	53	32	83
10,7	14,3	13,6	9	5,3	1,8	3,7	3,6	14,2	10,5	4,4	4,9	6,8	10	5	6	0,6	1,6	302	30	43	65	54	41	69
11,5	14,3	13,4	8,9	6	2,2	3,7	3,5	14,2	10,9	4	4,8	7,2	9,5	6,2	5,7	0,7	1,4	327	44	55	63	57	29	79
11,3	13,8	12,6	8,9	6	1,9	3,3	3,1	13,7	10,8	3,5	4,5	7,6	11,2	6,4	5,6	0,7	1,9	333	39	52	72	49	45	76
11,4	14,2	13,7	8,8	6,6	1,8	3,6	3,1	13,8	10,6	3,7	4,4	7,2	9,2	5,8	6,2	0,6	1,3	301	32	55	65	54	30	65

Правое крыло

AK	AB	AI	AE	AD	AT	AM	LM	LB	MB	KB	KI	KE	KD	KF	IE	FC	MN	S	S1	S2	S3	S4	S5	S6
11,1	14,4	13,8	9,3	4,9	1,9	3,9	3,6	14,3	10,8	4	5	7,1	10,9	5,7	5,9	0,9	1,6	313	34	51	63	59	45	61
10,6	13,4	12,8	8,4	5,4	1,9	3,2	2,9	13	10,3	3,4	4,7	6,9	10,4	5,7	5,8	0,5	1,5	304	38	55	55	53	39	64
10,4	13,1	12,5	8,4	5,3	1,6	3,6	3,3	12,9	9,6	3,7	4,1	6,2	9,5	5,1	5,3	0,4	1,3	269	41	50	45	39	33	61
11,7	14,3	14	9,4	6,2	1,4	3,7	3,6	14,1	10,7	3,4	4,6	7,3	10,6	6,4	6,3	0,6	1,4	320	32	56	60	64	33	75
10,2	13,6	13,3	8,4	5,3	1,8	3,1	3	13,5	10,6	4,1	4,3	6,7	10,4	5,6	6,7	0,5	1,5	268	23	47	47	49	38	64
11,8	15	14,3	9,2	6,1	1,7	3,6	3,2	14,7	11,7	3,7	4,3	7,5	10,7	6,4	7	0,9	1,3	327	48	57	60	57	30	75
11	13,8	12,8	8,8	5,8	1,5	3,5	3,3	13,7	10,4	4	4,2	7,1	10,3	6	5,7	0,7	1,2	294	28	50	64	50	26	76
11,3	13,4	13,3	8,8	6,3	1,3	3,8	3,6	13,2	9,6	3,2	4,3	7,2	10,1	6	6	0,4	1,6	308	33	51	58	54	39	73
11,4	13,9	11,9	7,1	5,5	2,1	2,4	2,1	13,7	11,8	3,8	5	9,1	11,7	7,6	6,7	0,6	1,9	328	46	72	71	53	33	48
10,4	13,4	12,7	8,9	5,7	1,8	3,3	3	13,2	10,2	3,7	4,4	6,3	9,5	5,5	5	0,9	1,3	275	24	46	54	45	40	66
10,9	13,3	13	9,5	6,1	2,4	3,8	3,5	13,1	9,7	3,4	4,3	7,3	10,2	7,2	5,6	0,8	1,5	314	38	52	57	50	41	76
11,2	14	13,3	8,4	5,6	1,9	3,6	3,2	13,8	10,6	4,1	4,7	7,3	10,6	6,1	6,3	0,6	2	319	44	60	61	48	52	54
10,2	12,9	12,3	7,5	5,5	2,2	2,4	2,2	12,8	10,7	3,6	4,3	6,8	10,3	5,9	6,1	0,6	1,7	292	33	51	56	48	45	59
13,2	13,9	12,5	8,6	5,8	1,7	2,5	2,4	13,8	11,5	2,8	4,6	8,7	12	8,3	5,5	0,4	1,6	331	45	76	64	50	29	67
10,7	14	13,5	9,5	6,6	2,8	4	3,2	13,4	10,4	4,1	4,7	6,7	9,9	5,1	5,6	0,8	1,6	338	52	58	58	46	50	74
11	13,5	12,4	8,4	5,6	1,6	3,2	2,9	13,3	10,4	3,5	4,2	6,9	10,2	6	5,3	0,7	1	286	43	49	59	33	35	67
9,5	13,3	12,8	8,2	5,5	2,4	2,9	2,7	13,2	10,5	4,5	4,9	7,2	10,2	5,2	6,7	0,7	1,7	318	22	52	57	68	37	82
11,2	14,5	13,9	9,4	5	2	4	3,7	14,3	10,9	4,1	5,1	7,2	11	5,8	6	1	1,7	318	35	52	64	60	46	61
10,5	13,3	12,7	8,3	5,3	1,8	3,1	2,8	12,9	10,2	3,3	4,6	6,8	10,3	5,6	5,7	0,4	1,4	299	37	54	55	52	38	63
10,5	13,2	12,6	8,5	5,4	1,7	3,7	3,4	13	9,7	3,8	4,2	6,3	9,6	5,2	5,4	0,5	1,4	275	42	51	46	40	34	62
11,8	14,4	14,1	9,5	6,3	1,5	3,8	3,7	14,2	10,8	3,5	4,7	7,4	10,7	6,5	6,4	0,7	1,5	324	32	57	61	64	34	76
11,3	13,8	11,8	7	5,4	2	2,3	2	13,6	11,7	3,7	4,9	9	11,6	7,5	6,6	0,5	1,8	317	45	71	70	52	32	47
11,3	14,1	13,4	8,5	5,7	1,9	3,7	3,3	13,9	10,7	4,2	4,8	7,4	10,7	6,2	6,3	0,7	2,1	325	45	61	62	49	53	55
13,3	14	12,6	8,7	5,9	1,8	2,6	2,5	13,9	11,6	2,9	4,6	8,8	12,1	8,4	5,6	0,5	1,7	337	46	77	65	51	30	68
9,5	13,2	12,7	8,1	5,4	2,3	2,8	2,6	13,1	10,4	4,4	4,8	7,1	10,1	5,1	6,6	0,7	1,7	312	21	51	56	67	36	81

Приложение А9
Морфометрические показатели крыла линии *scalloped*. Левое крыло

№	AK	AB	AI	AE	AD	AT	AM	LM	LB	MB	KB	KI	KE	KD	KF	IE	NM	FC	Sk	21	22	23	24	25	26	side	sex
1	79	108	104	65	44	18	23	20	105	87	39	44	60	80	49	53	4	11	207	21	44	44	38	21	39	1	1
2	85	114	110	75	50	19	22	19	112	93	36	40	61	80	49	52	4	10	221	23	44	40	44	21	49	1	1
3	83	111	107	70	47	24	21	19	110	93	37	44	66	93	51	56	5	12	217	19	35	35	45	28	55	1	1
4	96	111	110	78	50	13	26	21	109	89	25	40	72	96	58	52	2	7	229	22	60	36	40	13	58	1	1
5	81	111	109	73	49	24	26	24	110	88	37	44	60	83	42	53	4	15	235	27	38	41	47	31	51	1	1
6	90	111	105	68	48	21	24	20	110	91	30	39	70	95	54	56	5	17	232	35	42	48	39	30	38	1	1
7	80	107	102	69	45	21	17	13	105	93	34	43	67	91	51	54	5	7	229	24	31	48	54	14	58	1	1
8	108	127	125	87	58	13	39	37	125	88	29	38	67	92	53	54	3	13	255	38	51	35	46	21	64	1	1
9	79	105	101	68	48	15	26	25	104	81	33	37	58	79	44	50	5	11	201	22	39	33	39	23	45	1	1
10	86	115	107	69	48	12	26	24	114	90	35	39	57	78	47	49	4	13	211	26	42	46	34	20	43	1	1
11	79	109	108	72	45	21	27	25	108	83	39	47	60	86	43	53	6	11	236	19	41	46	46	25	59	1	1
12	89	115	115	77	55	28	26	24	114	91	35	47	73	93	52	61	5	16	290	25	44	52	65	29	75	1	1
13	95	123	116	78	51	17	28	25	121	98	33	40	63	94	53	54	6	10	253	34	41	54	41	19	64	1	1
14	96	122	118	79	55	19	26	22	119	98	34	43	67	93	54	56	5	12	263	38	42	50	51	23	59	1	1
15	85	112	105	73	47	16	27	25	110	85	35	41	62	86	47	49	3	15	222	19	36	42	44	30	51	1	1
16	93	114	111	79	54	21	30	28	113	86	29	39	66	87	48	52	6	12	240	17	40	45	48	24	66	1	1
17	74	106	105	71	50	17	26	24	104	82	38	46	58	74	40	51	6	9	208	18	35	43	43	22	47	1	1
18	92	116	111	75	54	18	27	25	114	91	31	37	62	89	53	53	4	11	238	37	31	43	50	25	52	1	1
19	88	115	111	45	50	16	29	27	114	87	35	42	60	85	48	50	5	10	227	24	40	45	41	21	56	1	1
20	86	113	106	74	48	17	28	26	111	86	36	42	63	87	48	49	4	16	228	20	37	43	45	31	52	1	1
21	92	113	110	78	53	20	29	27	112	85	28	38	65	86	47	51	6	11	235	16	39	44	47	24	65	1	1
22	75	107	106	72	51	18	27	25	105	83	39	47	59	75	41	52	7	10	213	19	36	43	44	23	48	1	1
23	91	115	110	74	53	17	26	24	113	90	30	36	61	88	52	53	4	10	232	36	30	42	49	24	51	1	1
24	87	114	110	74	49	15	28	26	113	86	34	41	59	84	47	49	5	10	221	23	39	44	40	20	55	1	1
25	80	109	105	67	45	19	24	21	106	88	40	45	61	81	50	54	5	12	212	22	45	44	39	22	40	1	1
1	80	105	106	71	46	19	24	22	104	82	32	41	55	80	44	50	3	12	204	18	35	32	44	21	54	2	1
2	90	110	108	76	49	18	25	20	107	87	27	38	61	90	50	48	2	14	226	37	36	38	42	19	54	2	1
3	102	117	112	73	49	13	30	29	116	86	23	31	63	90	51	52	5	17	247	30	44	49	45	28	51	2	1
4	90	114	110	74	49	19	26	24	113	89	35	42	63	89	47	50	7	15	233	24	41	45	41	28	54	2	1
5	92	118	115	74	48	13	26	24	116	93	36	42	61	84	48	54	2	13	218	27	40	41	41	23	46	2	1
6	89	115	106	68	44	14	23	21	114	93	33	39	63	87	51	52	4	13	209	22	37	44	40	23	43	2	1
7	86	111	103	71	39	15	26	24	109	86	33	38	59	86	45	45	4	12	201	24	37	42	34	20	44	2	1
8	93	115	109	66	45	11	25	23	113	91	32	37	65	85	54	58	4	11	210	31	48	34	41	23	33	2	1
9	86	108	106	65	45	16	26	24	106	83	30	38	60	80	49	55	4	12	193	22	36	35	39	26	35	2	1
10	87	111	109	72	47	18	23	20	109	89	30	35	58	84	48	53	4	12	226	39	37	43	36	23	48	2	1
11	86	108	104	63	44	16	20	18	107	89	30	41	63	85	55	54	4	12	215	30	43	42	40	21	39	2	1
12	85	119	114	72	47	19	24	23	118	96	40	44	63	85	47	59	6	15	237	17	41	53	50	35	41	2	1
13	87	113	114	74	49	18	28	24	109	88	31	39	58	79	51	55	5	10	224	31	46	47	38	23	39	2	1
14	96	119	114	69	49	20	23	20	118	99	33	41	71	96	63	61	5	12	246	25	56	56	45	26	38	2	1
15	84	111	108	72	42	15	24	22	110	88	33	41	54	81	48	47	6	10	222	27	42	46	32	22	53	2	1
16	98	117	114	74	49	17	29	25	113	89	26	34	60	88	53	53	5	12	216	31	31	46	41	27	40	2	1
17	82	105	98	67	44	15	23	20	103	83	33	37	57	78	45	44	3	13	188	24	38	33	31	19	43	2	1
18	85	112	106	70	42	13	27	25	111	86	33	37	57	81	46	49	4	13	197	24	30	40	45	18	40	2	1
19	88	116	112	76	46	17	28	26	114	89	33	39	58	87	46	51	5	13	227	28	33	45	41	20	60	2	1
20	85	112	109	73	43	16	25	23	111	89	34	42	55	82	49	48	7	11	228	28	43	47	33	23	54	2	1
21	97	116	113	73	48	16	28	24	112	88	25	33	59	87	52	52	5	11	210	30	30	45	40	26	39	2	1
22	83	106	99	68	45	16	24	21	104	84	34	38	57	79	46	45	4	14	192	25	39	34	32	19	43	2	1
23	84	111	105	69	41	12	26	24	110	85	32	36	56	80	45	48	4	12	191	23	29	39	44	17	39	2	1
24	87	115	111	75	44	17	27	26	113	88	32	38	57	86	45	50	5	12	221	27	32	44	40	19	59	2	1
25	81	106	107	72	47	20	25	23	105	83	33	42	56	81	45	51	4	12	208	19	35	33	44	22	55	2	1

Приложение А9

Морфометрические показатели крыловой пластинки линии «Белгород» при рентген и гамма-облучении разными дозами. Часть 1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24			
N	AK	AB	AI	AE	AD	AT	AM	LM	LB	MB	KB	KI	KE	KD	KF	IE	FC	MN	21	22	23	24	25	26	side	sex	line
1	1,91	2,31	2,25	1,52	0,92	0,27	0,61	0,55	2,27	1,73	0,55	0,65	1,18	1,79	0,94	1,02	0,20	0,07	0,26	0,35	0,38	0,23	0,37	0,56	1	2	6
2	1,70	2,09	2,05	1,33	0,89	0,32	0,45	0,42	2,10	1,67	0,57	0,68	1,14	1,66	0,94	1,01	0,21	0,07	0,24	0,38	0,38	0,23	0,39	0,51	1	2	6
3	1,73	2,22	2,19	1,49	0,92	0,29	0,55	0,43	2,12	1,70	0,61	0,69	1,07	1,62	0,85	0,97	0,21	0,06	0,18	0,34	0,36	0,22	0,37	0,54	1	2	6
4	1,69	2,07	2,05	1,41	0,90	0,33	0,46	0,38	2,02	1,65	0,54	0,68	1,16	1,75	0,94	0,97	0,24	0,08	0,24	0,36	0,39	0,24	0,39	0,54	1	2	6
5	1,87	2,28	2,22	1,50	0,95	0,29	0,55	0,48	2,21	1,73	0,56	0,67	1,16	1,76	0,94	0,99	0,22	0,07	0,27	0,36	0,38	0,25	0,38	0,58	1	2	6
6	1,65	2,07	2,03	1,33	0,84	0,34	0,45	0,39	1,99	1,62	0,50	0,58	1,03	1,64	0,88	0,99	0,19	0,05	0,24	0,28	0,31	0,21	0,36	0,51	1	2	6
7	1,80	2,21	2,15	1,44	0,82	0,25	0,49	0,42	2,14	1,72	0,54	0,67	1,19	1,82	0,97	1,03	0,21	0,07	0,22	0,34	0,37	0,22	0,41	0,52	1	2	6
8	1,84	2,16	2,16	1,49	0,83	0,26	0,54	0,48	2,13	1,65	0,49	0,65	1,14	1,81	0,92	0,94	0,21	0,09	0,22	0,33	0,38	0,24	0,36	0,55	1	2	6
9	1,75	2,15	2,11	1,45	0,83	0,30	0,49	0,43	2,10	1,68	0,52	0,67	1,16	1,77	0,95	0,97	0,20	0,07	0,25	0,36	0,38	0,23	0,39	0,54	1	2	6
10	1,70	2,11	2,06	1,36	0,76	0,27	0,46	0,37	2,04	1,66	0,52	0,66	1,08	1,77	0,89	0,94	0,19	0,08	0,21	0,31	0,36	0,18	0,38	0,54	1	2	6
11	1,78	2,20	2,13	1,41	0,79	0,29	0,52	0,44	2,12	1,68	0,56	0,70	1,16	1,81	0,97	0,99	0,19	0,07	0,24	0,38	0,39	0,23	0,39	0,54	1	2	6
12	1,78	2,15	2,12	1,38	0,83	0,31	0,53	0,47	2,13	1,65	0,56	0,68	1,16	1,78	0,94	1,01	0,22	0,09	0,23	0,37	0,37	0,24	0,36	0,52	1	2	6
13	1,78	2,17	2,12	1,35	0,78	0,30	0,48	0,40	2,11	1,71	0,54	0,63	1,12	1,79	0,93	1,02	0,22	0,06	0,22	0,32	0,34	0,22	0,35	0,54	1	2	6
14	1,74	2,13	2,07	1,35	0,79	0,26	0,46	0,41	2,09	1,68	0,54	0,68	1,16	1,80	0,97	0,97	0,20	0,07	0,19	0,27	0,31	0,18	0,32	0,44	1	2	6
15	1,79	2,24	2,18	1,48	0,90	0,23	0,55	0,47	2,15	1,69	0,54	0,65	1,12	1,69	0,87	0,98	0,23	0,05	0,19	0,27	0,31	0,20	0,32	0,47	1	2	6
16	1,76	2,13	2,09	1,43	0,80	0,22	0,54	0,45	2,05	1,61	0,49	0,60	0,95	1,62	0,88	0,83	0,15	0,03	0,17	0,23	0,26	0,15	0,27	0,41	1	2	6
17	1,71	2,05	2,01	1,40	0,78	0,28	0,51	0,43	2,01	1,57	0,49	0,63	1,10	1,77	0,92	0,92	0,21	0,08	0,20	0,28	0,29	0,18	0,29	0,42	1	2	6
18	1,84	2,26	2,21	1,46	0,83	0,23	0,57	0,48	2,19	1,72	0,53	0,64	1,14	1,86	0,96	1,02	0,19	0,06	0,21	0,28	0,30	0,18	0,32	0,46	1	2	6
19	1,77	2,15	2,09	1,38	0,82	0,23	0,54	0,49	2,09	1,62	0,51	0,64	1,10	1,69	0,88	0,96	0,20	0,08	0,18	0,25	0,30	0,19	0,28	0,42	1	2	6
20	1,70	2,15	2,11	1,41	0,84	0,33	0,46	0,37	2,14	1,75	0,59	0,71	1,15	1,78	0,91	1,00	0,23	0,09	0,21	0,33	0,34	0,21	0,35	0,48	1	2	6
21	1,69	2,06	2,03	1,37	0,84	0,31	0,50	0,47	2,03	1,58	0,54	0,67	1,11	1,67	0,88	0,95	0,23	0,07	0,17	0,28	0,29	0,19	0,31	0,43	1	2	6
22	1,76	2,18	2,13	1,46	0,84	0,34	0,49	0,42	2,13	1,70	0,58	0,73	1,14	1,76	0,90	0,95	0,21	0,08	0,22	0,31	0,34	0,20	0,32	0,49	1	2	6
23	1,85	2,27	2,21	1,44	0,78	0,23	0,57	0,51	2,23	1,71	0,59	0,70	1,18	1,80	0,94	1,02	0,20	0,08	0,20	0,26	0,33	0,17	0,34	0,45	1	2	6
24	1,74	2,10	2,05	1,39	0,84	0,27	0,50	0,41	2,06	1,61	0,50	0,62	1,08	1,64	0,90	0,94	0,20	0,06	0,19	0,25	0,26	0,17	0,30	0,42	1	2	6
25	1,72	2,11	2,05	1,35	0,81	0,28	0,50	0,42	2,06	1,62	0,50	0,63	1,10	1,70	0,90	0,93	0,21	0,06	0,18	0,25	0,29	0,19	0,30	0,42	1	2	6
26	1,85	2,29	2,24	1,54	0,78	0,27	0,61	0,49	2,20	1,68	0,55	0,67	1,15	1,83	0,91	1,02	0,21	0,05	0,22	0,33	0,37	0,23	0,39	0,56	2	2	6
27	1,87	2,27	2,19	1,49	0,87	0,27	0,60	0,48	2,18	1,68	0,54	0,64	1,07	1,72	0,90	0,93	0,20	0,05	0,24	0,32	0,34	0,23	0,35	0,51	2	2	6
28	1,79	2,15	2,10	1,40	0,90	0,27	0,47	0,41	2,12	1,72	0,51	0,65	1,16	1,73	1,00	0,98	0,19	0,06	0,24	0,36	0,37	0,22	0,37	0,51	2	2	6
29	1,79	2,20	2,16	1,47	0,87	0,28	0,50	0,45	2,15	1,71	0,55	0,66	1,15	1,79	0,93	1,00	0,23	0,08	0,23	0,36	0,38	0,25	0,38	0,56	2	2	6
30	1,87	2,28	2,24	1,53	0,90	0,32	0,55	0,47	2,20	1,74	0,57	0,69	1,16	1,80	0,98	1,00	0,20	0,09	0,24	0,40	0,39	0,26	0,40	0,58	2	2	6

Приложение A10

Морфометрические показатели крыловой пластинки линии «Белгород» при рентген и гамма-облучении разными дозами. Часть 2

31	1,74	2,14	2,09	1,41	0,89	0,30	0,53	0,45	2,09	1,65	0,55	0,67	1,17	1,73	0,96	0,99	0,22	0,07	0,23	0,35	0,36	0,25	0,38	0,52	2	2	6
32	1,79	2,19	2,14	1,39	0,82	0,28	0,47	0,44	2,18	1,75	0,57	0,67	1,16	1,80	0,97	1,02	0,21	0,08	0,22	0,35	0,37	0,23	0,39	0,52	2	2	6
33	1,85	2,20	2,16	1,51	0,85	0,29	0,58	0,53	2,16	1,64	0,49	0,65	1,15	1,76	0,96	0,93	0,20	0,08	0,24	0,36	0,37	0,23	0,36	0,55	2	2	6
34	1,71	2,11	2,07	1,38	0,78	0,30	0,46	0,43	2,06	1,66	0,53	0,66	1,15	1,75	0,95	0,99	0,19	0,07	0,21	0,37	0,38	0,20	0,40	0,50	2	2	6
35	1,65	2,05	1,99	1,33	0,78	0,32	0,40	0,33	1,99	1,66	0,52	0,65	1,10	1,76	0,91	0,94	0,22	0,07	0,21	0,30	0,37	0,23	0,35	0,52	2	2	6
36	1,80	2,24	2,20	1,46	0,82	0,26	0,60	0,48	2,17	1,68	0,59	0,71	1,16	1,80	0,96	1,03	0,20	0,09	0,24	0,36	0,39	0,24	0,37	0,54	2	2	6
37	1,75	2,16	2,10	1,40	0,68	0,26	0,51	0,48	2,13	1,65	0,54	0,66	1,10	1,78	0,92	0,94	0,20	0,07	0,22	0,29	0,36	0,20	0,37	0,51	2	2	6
38	1,79	2,22	2,16	1,41	0,74	0,27	0,53	0,47	2,16	1,69	0,54	0,65	1,15	1,82	0,91	1,03	0,22	0,05	0,23	0,32	0,34	0,22	0,41	0,56	2	2	6
39	1,71	2,09	2,06	1,39	0,77	0,27	0,47	0,41	2,07	1,66	0,56	0,67	1,14	1,76	0,91	0,97	0,21	0,06	0,20	0,27	0,32	0,19	0,32	0,44	2	2	6
40	1,82	2,22	2,19	1,45	0,82	0,28	0,50	0,45	2,18	1,75	0,54	0,67	1,17	1,83	0,92	1,01	0,24	0,07	0,19	0,30	0,33	0,20	0,34	0,47	2	2	6
41	1,67	2,04	1,99	1,37	0,88	0,28	0,43	0,36	2,00	1,63	0,50	0,65	1,09	1,61	0,92	0,88	0,16	0,09	0,20	0,28	0,30	0,18	0,31	0,42	2	2	6
42	1,67	2,05	2,01	1,38	0,79	0,30	0,47	0,40	2,03	1,60	0,51	0,64	1,09	1,67	0,91	0,86	0,17	0,07	0,18	0,28	0,30	0,18	0,29	0,41	2	2	6
43	1,77	2,17	2,09	1,43	0,82	0,24	0,55	0,49	2,11	1,63	0,54	0,66	1,16	1,79	0,95	0,99	0,22	0,07	0,24	0,29	0,31	0,20	0,32	0,44	2	2	6
44	1,74	2,10	2,03	1,36	0,78	0,25	0,52	0,45	2,05	1,59	0,45	0,55	1,06	1,68	0,84	0,92	0,22	0,03	0,17	0,23	0,24	0,20	0,29	0,40	2	2	6
45	1,69	2,09	2,05	1,36	0,80	0,29	0,43	0,37	2,07	1,67	0,56	0,66	1,13	1,74	0,91	0,97	0,22	0,09	0,20	0,29	0,32	0,18	0,32	0,44	2	2	6
46	1,80	2,16	2,09	1,42	0,90	0,32	0,55	0,47	2,11	1,61	0,54	0,64	1,15	1,75	0,91	0,93	0,22	0,09	0,22	0,29	0,32	0,20	0,31	0,46	2	2	6
47	1,73	2,15	2,12	1,40	0,81	0,25	0,49	0,44	2,14	1,70	0,55	0,68	1,10	1,65	0,89	0,98	0,19	0,05	0,16	0,31	0,32	0,17	0,33	0,47	2	2	6
48	1,78	2,24	2,17	1,43	0,88	0,26	0,56	0,48	2,18	1,67	0,59	0,71	1,13	1,67	0,94	1,00	0,20	0,07	0,20	0,30	0,32	0,19	0,33	0,44	2	2	6
49	1,78	2,17	2,09	1,43	0,81	0,28	0,56	0,47	2,09	1,59	0,50	0,61	1,12	1,72	0,88	0,95	0,20	0,08	0,18	0,25	0,30	0,19	0,30	0,43	2	2	6
50	1,74	2,11	2,05	1,33	0,84	0,30	0,46	0,40	2,08	1,64	0,51	0,57	1,08	1,66	0,92	0,98	0,21	0,05	0,18	0,26	0,27	0,19	0,32	0,44	2	2	6
51	1,9	2,3	2,3	1,5	1	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4	0,6	1	2	7
52	1,9	2,3	2,3	1,5	0,9	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	7
53	2	2,5	2,4	1,6	0,9	0,3	0,5	0,5	2,4	1,9	0,6	0,8	1,3	1,9	1,1	1,2	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,5	0,6	1	2	7
54	1,9	2,3	2,3	1,5	0,9	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,9	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,6	1	2	7
55	1,8	2,2	2,1	1,3	0,8	0,3	0,6	0,5	2,1	1,7	0,6	0,7	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	7
56	1,9	2,4	2,3	1,5	0,9	0,3	0,5	0,5	2,4	1,9	0,6	0,8	1,3	1,9	1,1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,5	0,6	1	2	7
57	1,9	2,3	2,2	1,5	0,8	0,3	0,6	0,5	2,2	1,7	0,6	0,7	1,2	1,9	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	7
58	2,1	2,6	2,5	1,7	0,9	0,4	0,6	0,5	2,5	2	0,6	0,8	1,4	2,1	1,1	1,2	0,3	0,1	0,3	0,5	0,5	0,3	0,5	0,7	1	2	7
59	1,8	2,2	2,1	1,4	0,8	0,2	0,5	0,5	2,1	1,7	0,5	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,5	1	2	7
60	1,9	2,3	2,2	1,5	0,8	0,3	0,5	0,4	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,9	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,3	0,4	0,2	0,4	0,6	1	2	7
61	1,7	2,1	2	1,3	0,7	0,2	0,5	0,4	2	1,6	0,6	0,7	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	7
62	2	2,5	2,5	1,6	0,9	0,3	0,6	0,5	2,5	2	0,6	0,8	1,3	2	1,1	1,2	0,2	0,1	0,3	0,4	0,5	0,2	0,5	0,6	1	2	7
63	2	2,4	2,4	1,5	0,9	0,3	0,5	0,5	2,4	1,9	0,6	0,7	1,3	1,9	1,1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,5	0,6	1	2	7
64	1,8	2,2	2,2	1,4	0,8	0,2	0,5	0,4	2,2	1,8	0,6	0,7	1,1	1,8	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	7

Приложение A11

Морфометрические показатели крыловой пластинки линии «Белгород» при рентген и гамма-облучении разными дозами. Часть 3

65	2,1	2,5	2,4	1,6	0,9	0,3	0,6	0,5	2,4	1,9	0,6	0,7	1,3	2,1	1,1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,5	0,2	0,4	0,6	1	2	7
66	1,8	2,3	2,2	1,5	0,8	0,3	0,5	0,5	2,2	1,7	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	7
67	1,9	2,3	2,3	1,5	1	0,3	0,6	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	7
68	1,9	2,3	2,2	1,4	1	0,3	0,5	0,5	2,2	1,8	0,6	0,7	1,1	1,6	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	7
69	1,8	2,2	2,1	1,4	0,9	0,2	0,5	0,4	2,1	1,7	0,6	0,7	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,3	0,5	1	2	7
70	1,9	2,3	2,3	1,5	0,9	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,9	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,4	0,6	1	2	7
71	1,9	2,3	2,2	1,5	0,9	0,2	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	7
72	2	2,4	2,3	1,6	0,7	0,2	0,6	0,6	2,3	1,8	0,5	0,7	1,2	2	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	7
73	1,9	2,3	2,3	1,5	0,9	0,3	0,5	0,4	2,2	1,8	0,6	0,7	1,2	1,9	1,1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,4	0,6	1	2	7
74	1,6	2,1	2	1,3	0,8	0,2	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,7	1,1	1,5	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	7
75	1,9	2,3	2,2	1,5	0,9	0,3	0,5	0,5	2,2	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	7
76	1,9	2,3	2,3	1,4	0,9	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,8	1,2	1,8	1	0,8	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	7
77	1,9	2,4	2,3	1,6	0,9	0,3	0,6	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,9	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,6	2	2	7
78	2	2,5	2,4	1,6	1	0,3	0,6	0,5	2,4	1,9	0,6	0,7	1,3	1,8	1,1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,5	0,6	2	2	7
79	1,9	2,3	2,2	1,5	0,9	0,3	0,5	0,4	2,2	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1,1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	7
80	1,7	2,2	2,1	1,4	0,9	0,2	0,5	0,5	2,1	1,7	0,6	0,7	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	2	2	7
81	1,8	2,3	2,2	1,4	0,9	0,3	0,5	0,4	2,2	1,8	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	7
82	1,7	2,1	2,1	1,4	0,8	0,2	0,5	0,5	2,1	1,6	0,5	0,6	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	7
83	2,1	2,6	2,5	1,7	1	0,3	0,6	0,5	2,5	2	0,6	0,8	1,4	2,1	1,1	1,2	0,3	0,1	0,3	0,5	0,5	0,3	0,5	0,7	2	2	7
84	1,9	2,2	2,2	1,4	0,8	0,2	0,5	0,5	2,2	1,7	0,5	0,7	1,2	1,8	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,5	2	2	7
85	1,9	2,3	2,3	1,5	0,9	0,3	0,5	0,4	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,9	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,4	0,6	2	2	7
86	1,6	2	2	1,3	0,9	0,2	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,6	1,1	1,5	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	7
87	2,1	2,5	2,5	1,6	1	0,2	0,6	0,5	2,5	2	0,6	0,8	1,3	1,9	1,1	1,2	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,5	0,6	2	2	7
88	2	2,5	2,4	1,6	1	0,3	0,6	0,5	2,3	1,9	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1,2	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,6	2	2	7
89	1,8	2,2	2,1	1,4	0,8	0,3	0,5	0,4	2,2	1,7	0,6	0,7	1,1	1,8	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	7
90	2,1	2,5	2,4	1,6	1	0,2	0,6	0,6	2,5	1,9	0,6	0,7	1,3	1,9	1,1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4	0,6	2	2	7
91	1,9	2,3	2,3	1,5	0,9	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	7
92	1,9	2,4	2,3	1,5	0,9	0,3	0,6	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	7
93	2	2,4	2,3	1,5	0,8	0,3	0,6	0,5	2,4	1,8	0,6	0,7	1,2	2	1,1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,4	0,6	2	2	7
94	1,8	2,2	2,1	1,4	0,9	0,3	0,5	0,4	2,1	1,7	0,6	0,7	1,1	1,7	1	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,3	0,5	2	2	7
95	1,9	2,3	2,3	1,5	1	0,3	0,5	0,4	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	7
96	1,8	2,3	2,2	1,4	0,9	0,3	0,5	0,4	2,2	1,8	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	7
97	1,9	2,3	2,3	1,5	0,9	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	7
98	2	2,4	2,4	1,6	0,9	0,2	0,6	0,5	2,4	1,8	0,6	0,7	1,2	2	1,1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,4	0,6	2	2	7

Приложение A12

Морфометрические показатели крыловой пластинки линии «Белгород» при рентген и гамма-облучении разными дозами. Часть 4

99	1,6	2	2	1,3	0,7	0,2	0,5	0,4	2	1,6	0,6	0,7	1	1,6	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	7
100	1,9	2,3	2,2	1,5	0,8	0,3	0,5	0,5	2,2	1,8	0,5	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	7
101	1,7	2,1	2,1	1,3	0,8	0,3	0,5	0,4	2,1	1,7	0,6	0,7	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	8
102	1,9	2,3	2,3	1,5	0,9	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,5	1	2	8
103	1,7	2,1	2,1	1,5	0,9	0,3	0,5	0,4	2,1	1,6	0,5	0,7	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	1	2	8
104	1,9	2,3	2,3	1,5	1	0,3	0,6	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	8
105	1,7	2,1	2	1,4	0,8	0,3	0,5	0,4	2,1	1,6	0,5	0,7	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	8
106	1,7	2,2	2,1	1,4	0,9	0,3	0,5	0,4	2,1	1,7	0,6	0,7	1,2	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	8
107	1,9	2,2	2,2	1,5	0,9	0,3	0,5	0,5	2,2	1,7	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	1	2	8
108	1,8	2,3	2,2	1,5	0,9	0,2	0,6	0,5	2,2	1,7	0,6	0,7	1,2	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	8
109	1,5	1,8	1,8	1,2	0,9	0,3	0,4	0,4	1,8	1,4	0,4	0,6	1	1,4	0,7	0,9	0,2	0,1	0	0,2	0,2	0,1	0,3	0,4	1	2	8
110	1,9	2,3	2,2	1,5	0,8	0,2	0,6	0,5	2,2	1,7	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	8
111	2	2,4	2,3	1,5	0,9	0,3	0,5	0,5	2,4	1,9	0,6	0,7	1,2	1,9	1,1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	8
112	1,7	2,1	2	1,3	0,9	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,6	1	1,5	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	8
113	1,5	1,9	1,9	1,2	0,8	0,2	0,5	0,4	1,9	1,4	0,5	0,6	1	1,4	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	8
114	1,8	2,2	2,1	1,4	0,9	0,2	0,6	0,5	2,1	1,7	0,6	0,7	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	8
115	1,9	2,4	2,3	1,6	1	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	8
116	1,8	2,2	2,2	1,5	0,9	0,3	0,5	0,5	2,2	1,7	0,5	0,7	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	2	2	8
117	1,9	2,3	2,3	1,5	0,9	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,3	1,9	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	8
118	1,7	2,1	2,1	1,4	0,9	0,3	0,5	0,4	2,1	1,7	0,6	0,7	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	8
119	1,7	2,2	2,1	1,4	1	0,3	0,5	0,4	2,1	1,7	0,7	0,8	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	8
120	1,9	2,3	2,2	1,5	1	0,3	0,5	0,5	2,2	1,7	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	2	2	8
121	1,8	2,2	2,2	1,4	0,9	0,3	0,5	0,5	2,2	1,7	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	8
122	1,6	2	2	1,3	0,8	0,2	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,6	1	1,6	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	8
123	1,8	2,2	2,2	1,5	0,8	0,3	0,6	0,5	2,2	1,7	0,5	0,7	1,2	1,8	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	8
124	1,8	2,2	2,1	1,4	0,8	0,3	0,5	0,4	2,2	1,7	0,5	0,6	1,1	1,8	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	8
125	1,7	2,1	2	1,3	0,8	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,6	1,1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	8
126	1,5	1,9	1,9	1,2	0,8	0,2	0,5	0,4	1,9	1,5	0,6	0,6	1	1,5	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	8
127	2	2,4	2,4	1,6	0,9	0,3	0,6	0,5	2,4	1,9	0,6	0,7	1,3	2	1,1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,5	0,3	0,5	0,6	1	2	9
128	1,7	2,1	2,1	1,3	0,8	0,2	0,5	0,4	2,1	1,6	0,5	0,6	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	1	2	9
129	2,1	2,5	2,5	1,6	1	0,3	0,6	0,5	2,5	1,9	0,6	0,7	1,3	1,9	1,1	1,2	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,3	0,5	0,6	1	2	9
130	1,6	2	1,9	1,3	0,7	0,2	0,4	0,4	2	1,6	0,5	0,6	1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	9
131	1,4	1,8	1,8	1,1	0,7	0,1	0,5	0,4	1,7	1,3	0,5	0,6	0,9	1,3	0,7	0,8	0,2	0	0,1	0,2	0,2	0,1	0,3	0,3	1	2	9
132	1,6	2,1	2	1,3	0,8	0,2	0,5	0,4	2	1,6	0,6	0,6	1	1,6	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	9

Приложение А13

Морфометрические показатели крыловой пластинки линии «Белгород» при рентген и гамма-облучении разными дозами. Часть 4

133	1,5	2	1,9	1,2	0,8	0,2	0,5	0,4	1,9	1,5	0,5	0,6	1	1,4	0,8	0,9	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	9
134	1,8	2,2	2,2	1,4	0,8	0,3	0,5	0,5	2,2	1,7	0,6	0,7	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,5	1	2	9
135	1,7	2,1	2	1,4	0,9	0,3	0,5	0,5	2	1,6	0,5	0,6	1	1,5	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,4	1	2	9
136	1,6	2	1,9	1,2	0,8	0,2	0,5	0,4	1,9	1,5	0,6	0,6	1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	9
137	1,7	2,1	2	1,3	0,9	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,6	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	1	2	9
138	1,7	2,1	2	1,4	0,8	0,3	0,5	0,5	2,1	1,6	0,6	0,7	1,2	1,7	0,9	1	0,2	0	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,5	1	2	9
139	1,7	2,1	2,1	1,4	0,9	0,2	0,5	0,4	2,1	1,6	0,6	0,7	1,1	1,5	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	9
140	1,6	2,1	2	1,3	0,7	0,2	0,5	0,4	2	1,6	0,6	0,7	1,1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	9
141	1,6	1,9	1,9	1,2	0,8	0,2	0,5	0,4	1,9	1,5	0,5	0,6	1	1,4	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	9
142	1,7	2,1	2,1	1,4	0,9	0,2	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,6	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	9
143	1,6	1,9	1,9	1,2	0,7	0,2	0,5	0,4	1,9	1,5	0,5	0,6	1	1,5	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	9
144	1,7	2	2	1,3	0,9	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,6	1,1	1,5	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	9
145	1,8	2,2	2,1	1,4	0,8	0,3	0,5	0,5	2,1	1,7	0,6	0,7	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	9
146	1,4	1,8	1,8	1,1	0,7	0,2	0,4	0,4	1,8	1,4	0,5	0,6	1	1,4	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,1	0,3	0,3	1	2	9
147	1,8	2,2	2,2	1,4	0,7	0,2	0,6	0,5	2,2	1,7	0,6	0,7	1,2	1,8	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	9
148	1,7	2,1	2	1,3	0,8	0,2	0,5	0,4	2	1,6	0,6	0,6	1,1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	9
149	1,7	2,1	2,1	1,3	0,9	0,3	0,5	0,4	2,1	1,6	0,5	0,6	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,5	1	2	9
150	1,7	2,1	2	1,3	0,8	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,6	0,7	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,4	1	2	9
151	1,5	1,9	1,9	1,2	0,7	0,2	0,4	0,4	1,9	1,5	0,5	0,6	1	1,6	0,8	0,9	0,2	0	0,1	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	9
152	2	2,5	2,4	1,6	0,9	0,2	0,6	0,5	2,4	1,9	0,6	0,7	1,3	2	1,1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,5	0,3	0,5	0,6	2	2	9
153	1,7	2,1	2,1	1,3	0,9	0,3	0,5	0,4	2,1	1,6	0,6	0,7	1,1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	2	2	9
154	2	2,5	2,4	1,5	0,8	0,2	0,6	0,5	2,4	1,9	0,6	0,7	1,3	2	1,1	1,2	0,2	0,1	0,3	0,4	0,5	0,2	0,5	0,6	2	2	9
155	1,6	2	1,9	1,3	0,7	0,2	0,4	0,4	1,9	1,6	0,6	0,6	1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	9
156	1,4	1,7	1,7	1,1	0,7	0,2	0,4	0,4	1,7	1,3	0,5	0,6	0,9	1,4	0,7	0,8	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,3	0,3	2	2	9
157	1,6	2	2	1,3	0,8	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,6	0,6	1	1,5	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	9
158	1,6	2	2	1,3	0,7	0,1	0,5	0,4	2	1,5	0,5	0,6	1	1,5	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,1	0,3	0,4	2	2	9
159	1,8	2,2	2,2	1,4	0,8	0,3	0,5	0,4	2,2	1,7	0,6	0,7	1,2	1,8	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	9
160	1,7	2	2	1,3	0,8	0,2	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,6	1	1,6	0,9	0,9	0,2	0	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	9
161	1,6	2	2	1,3	0,9	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,6	1,1	1,5	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	9
162	1,7	2,1	2,1	1,3	0,7	0,3	0,5	0,5	2,1	1,6	0,5	0,7	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,5	2	2	9
163	1,6	2	1,9	1,3	0,9	0,3	0,4	0,4	2	1,6	0,6	0,7	1,1	1,5	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	2	2	9
164	1,7	2,1	2,1	1,3	0,8	0,2	0,5	0,4	2,1	1,6	0,5	0,7	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,3	0,5	2	2	9
165	1,6	2,1	2	1,3	0,7	0,2	0,5	0,4	2	1,6	0,6	0,7	1	1,7	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	9
166	1,5	1,9	1,9	1,1	0,7	0,2	0,4	0,4	1,9	1,5	0,6	0,6	1	1,4	0,8	0,9	0,2	0	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	9

Приложение А14

Морфометрические показатели крыловой пластинки линии «Белгород» при рентген и гамма-облучении разными дозами. Часть 5

167	1,7	2,1	2,1	1,4	0,8	0,2	0,5	0,5	2,1	1,6	0,6	0,7	1,1	1,6	0,8	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,3	0,4	2	2	9
168	1,6	2	1,9	1,2	0,7	0,2	0,5	0,4	1,9	1,5	0,5	0,6	1,1	1,6	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	9
169	1,7	2,1	2	1,3	0,8	0,2	0,5	0,4	2	1,5	0,5	0,6	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	9
170	1,8	2,2	2,1	1,4	0,7	0,3	0,5	0,5	2,1	1,6	0,6	0,7	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,1	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	9
171	1,4	1,8	1,8	1,1	0,7	0,2	0,4	0,4	1,8	1,4	0,5	0,6	1	1,4	0,8	0,9	0,2	0	0,1	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	2	2	9
172	1,7	2,1	2,1	1,3	0,8	0,3	0,5	0,5	2,1	1,7	0,6	0,7	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	9
173	1,7	2,1	2	1,3	0,7	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,6	1,1	1,7	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	9
174	1,8	2,1	2,1	1,3	0,9	0,3	0,5	0,4	2,1	1,6	0,5	0,7	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	9
175	1,7	2,1	2	1,3	0,7	0,2	0,5	0,5	2	1,6	0,5	0,6	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	9
176	1,5	1,8	1,8	1,2	0,8	0,3	0,4	0,3	1,8	1,5	0,4	0,6	1	1,5	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,1	0,3	0,4	2	2	9
177	1,9	2,3	2,3	1,5	1	0,3	0,5	0,5	2,2	1,8	0,5	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,6	1	2	10	
178	1,7	2,1	2	1,3	0,9	0,3	0,5	0,5	2	1,6	0,5	0,7	1,1	1,5	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,4	0,2	0,5	1	2	10
179	1,7	2,1	2	1,3	0,8	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,6	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,4	0,2	0,5	1	2	10
180	1,5	1,9	1,8	1,3	0,8	0,3	0,4	0,4	1,9	1,5	0,5	0,6	1	1,5	0,8	0,8	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,4	1	2	10
181	1,7	2,1	2	1,3	0,9	0,3	0,5	0,4	2,1	1,6	0,5	0,7	1,1	1,7	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,4	0,2	0,5	1	2	10
182	1,7	2,1	2	1,3	0,9	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,6	0,7	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,3	0,2	0,5	1	2	10
183	1,7	2	2	1,3	0,9	0,3	0,5	0,5	2	1,6	0,5	0,6	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,4	0,2	0,5	1	2	10
184	1,6	2	2	1,3	0,8	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,7	1,1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,4	1	2	10
185	1,8	2,2	2,2	1,4	1	0,3	0,5	0,5	2,2	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1,1	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0,5	1	2	10
186	1,7	2,1	2,1	1,3	0,9	0,3	0,5	0,4	2,1	1,7	0,6	0,7	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,3	0,2	0,5	1	2	10
187	1,8	2,2	2,1	1,4	1	0,3	0,5	0,5	2,1	1,7	0,5	0,6	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0,5	1	2	10
188	1,7	2,1	2	1,3	0,9	0,3	0,5	0,4	2,1	1,7	0,5	0,7	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,4	0,2	0,5	1	2	10
189	2	2,4	2,3	1,6	1,1	0,3	0,6	0,6	2,4	1,8	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,6	1	2	10
190	1,9	2,3	2,2	1,5	1	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0,6	1	2	10
191	1,9	2,3	2,3	1,5	1	0,3	0,6	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0,6	1	2	10
192	1,8	2,2	2,2	1,5	1	0,3	0,5	0,5	2,2	1,7	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0,6	1	2	10
193	1,7	2,2	2,1	1,4	1	0,3	0,5	0,4	2,1	1,7	0,5	0,7	1,2	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,4	0,2	0,5	1	2	10
194	1,9	2,3	2,3	1,5	1,1	0,3	0,6	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,6	1	2	10
195	1,7	2,1	2,1	1,3	1	0,3	0,5	0,4	2,1	1,7	0,6	0,6	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,4	0,2	0,5	1	2	10
196	1,9	2,2	2,2	1,5	1,1	0,3	0,6	0,5	2,2	1,7	0,5	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0,6	1	2	10
197	1,9	2,3	2,3	1,5	1,1	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,6	1	2	10
198	1,9	2,4	2,3	1,5	1,1	0,3	0,6	0,6	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,6	1	2	10
199	1,9	2,3	2,2	1,5	1	0,2	0,6	0,5	2,2	1,8	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,4	0,2	0,6	1	2	10
200	2	2,4	2,3	1,5	1,1	0,3	0,6	0,6	2,4	1,8	0,6	0,7	1,3	1,7	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,6	1	2	10

Приложение A15

Морфометрические показатели крыловой пластинки линии «Белгород» при рентген и гамма-облучении разными дозами. Часть 6

201	2	2,5	2,4	1,6	1,1	0,3	0,6	0,6	2,4	1,8	0,6	0,8	1,3	1,7	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,6	1	2	10
202	1,9	2,3	2,2	1,5	1	0,3	0,6	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0,6	2	2	10
203	1,7	2,1	2	1,3	0,9	0,2	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,6	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,5	2	2	10
204	1,6	2	2	1,3	0,8	0,3	0,4	0,4	2	1,6	0,5	0,6	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,5	2	2	10
205	1,5	1,9	1,8	1,2	0,8	0,3	0,4	0,3	1,8	1,5	0,5	0,6	1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,4	2	2	10
206	1,8	2,1	2,1	1,4	0,9	0,3	0,5	0,5	2,1	1,6	0,5	0,7	1,1	1,7	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,4	0,2	0,5	2	2	10
207	1,6	2	1,9	1,3	0,8	0,3	0,5	0,4	1,9	1,5	0,5	0,6	1,1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,4	2	2	10
208	1,6	2	1,9	1,3	0,9	0,3	0,5	0,4	2	1,5	0,5	0,6	1,1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,5	2	2	10
209	1,7	2	2	1,3	0,9	0,3	0,5	0,5	2	1,5	0,5	0,6	1,1	1,5	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,5	2	2	10
210	1,8	2,2	2,2	1,5	1	0,3	0,5	0,5	2,2	1,7	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,4	0,2	0,6	2	2	10
211	1,8	2,2	2,1	1,4	0,9	0,3	0,5	0,5	2,1	1,7	0,5	0,7	1,1	1,6	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,4	0,2	0,5	2	2	10
212	1,8	2,2	2,1	1,4	0,9	0,3	0,5	0,5	2,1	1,7	0,5	0,7	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,4	0,2	0,5	2	2	10
213	1,7	2	2	1,3	1	0,3	0,5	0,5	2	1,6	0,5	0,6	1,1	1,5	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,4	0,2	0,5	2	2	10
214	1,9	2,4	2,3	1,5	1,1	0,3	0,6	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,6	2	2	10
215	1,9	2,3	2,2	1,5	1	0,3	0,6	0,5	2,3	1,8	0,5	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0,6	2	2	10
216	1,9	2,2	2,2	1,4	1	0,3	0,5	0,4	2,2	1,8	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0,6	2	2	10
217	1,8	2,2	2,2	1,4	1,1	0,3	0,5	0,5	2,2	1,8	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,4	0,2	0,6	2	2	10
218	1,8	2,2	2,1	1,4	1	0,3	0,5	0,5	2,2	1,7	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0,5	2	2	10
219	1,8	2,2	2,1	1,4	1	0,3	0,5	0,5	2,2	1,7	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0,5	2	2	10
220	1,7	2,1	2	1,3	0,9	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,6	0,7	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,4	0,2	0,5	2	2	10
221	1,9	2,2	2,2	1,4	1,1	0,3	0,5	0,5	2,2	1,7	0,5	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0,6	2	2	10
222	1,9	2,3	2,2	1,5	1	0,4	0,5	0,5	2,2	1,8	0,5	0,7	1,2	1,8	1,1	1,1	0,3	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,6	2	2	10
223	1,9	2,4	2,3	1,6	1	0,3	0,6	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0,6	2	2	10
224	1,9	2,3	2,2	1,4	1	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,5	2	2	10
225	1,9	2,3	2,3	1,5	1	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,6	2	2	10
226	2	2,4	2,3	1,5	1	0,2	0,6	0,6	2,4	1,8	0,5	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0,5	2	2	10
227	1,6	2	2	1,3	0,8	0,2	0,5	0,4	1,9	1,5	0,5	0,6	1	1,6	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	11
228	1,8	2,2	2,1	1,4	0,9	0,3	0,5	0,5	2,1	1,7	0,5	0,7	1,1	1,8	1	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	11
229	1,8	2,2	2,2	1,4	0,9	0,3	0,5	0,5	2,2	1,7	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4	0,6	1	2	11
230	1,9	2,3	2,2	1,5	0,9	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,9	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,5	0,6	1	2	11
231	1,7	2,1	2	1,4	0,9	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,6	1,1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	11
232	1,7	2,1	2	1,3	0,7	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,7	1,1	1,7	1	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	11
233	1,7	2,1	2	1,3	0,8	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,6	0,7	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	11
234	1,7	2,1	2	1,3	0,7	0,3	0,4	0,4	2	1,6	0,5	0,6	1,1	1,7	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	11

Приложение А16

Морфометрические показатели крыловой пластинки линии «Белгород» при рентген и гамма-облучении разными дозами. Часть 7

235	1,8	2,2	2,1	1,4	0,8	0,2	0,5	0,4	2,1	1,7	0,6	0,7	1,1	1,7	1	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,6	1	2	11
236	1,7	2	1,9	1,3	0,9	0,2	0,5	0,5	2	1,5	0,5	0,6	1,1	1,5	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,5	1	2	11
237	1,6	2,1	2	1,4	0,8	0,2	0,5	0,4	2	1,6	0,6	0,7	1,1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	2	2	11
238	1,8	2,2	2,1	1,4	0,9	0,3	0,5	0,4	2,1	1,7	0,5	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	11
239	1,8	2,2	2,2	1,4	1	0,3	0,5	0,4	2,2	1,7	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4	0,6	2	2	11
240	2	2,4	2,3	1,5	1	0,3	0,6	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,3	0,5	0,6	2	2	11
241	1,7	2,1	2	1,4	0,8	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,7	1,1	1,7	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	11
242	1,7	2,1	2	1,4	0,9	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,7	1,1	1,6	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	11
243	1,7	2	2	1,3	0,9	0,2	0,5	0,4	2	1,5	0,6	0,6	1,1	1,5	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,3	0,4	2	2	11
244	1,7	2,1	2,1	1,4	0,8	0,3	0,5	0,4	2,1	1,6	0,6	0,7	1,1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	11
245	1,8	2,2	2,1	1,4	1	0,3	0,5	0,5	2,1	1,7	0,6	0,7	1,2	1,7	1	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4	0,6	2	2	11
246	1,6	2	2	1,3	0,8	0,2	0,5	0,4	2	1,5	0,5	0,6	1	1,6	0,9	0,9	0,2	0	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,5	2	2	11
247	1,9	2,2	2,2	1,5	0,9	0,2	0,5	0,4	2,1	1,7	0,5	0,8	1,3	1,8	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	12
248	1,7	2,1	2,1	1,4	0,9	0,3	0,6	0,5	2,1	1,6	0,6	0,7	1,1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	12
249	1,9	2,3	2,1	1,6	0,9	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,5	0,6	1,2	1,9	1	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	12
250	2	2,4	2,2	1,5	1	0,3	0,6	0,5	2,4	1,8	0,5	0,7	1,3	1,9	1	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	12
251	1,8	2,3	2,3	1,2	1,1	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,8	1,2	1,8	0,9	1,4	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	12
252	1,9	2,2	2,2	1,4	1	0,3	0,6	0,5	2,2	1,7	0,5	0,7	1,3	1,8	1	1,2	0,3	0,1	3,2	3,8	3,1	2,7	2,6	3,2	1	2	12
253	2	2,5	2,4	1,6	1	0,3	0,6	0,5	2,4	1,9	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	1	2	12
254	2	2,5	2,4	1,6	1	0,3	0,6	0,5	2,4	1,9	0,6	0,7	1,3	1,9	1	1,1	0,3	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	12
255	2	2,4	2,3	1,5	1,1	0,3	0,6	0,5	2,4	1,8	0,6	0,7	1,3	1,8	1,1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	12
256	1,9	2,3	2,3	1,5	0,9	0,3	0,6	0,5	2,2	1,8	0,5	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	12
257	2,1	2,6	2,5	1,7	1	0,3	0,6	0,6	2,5	1,9	0,6	0,7	1,3	1,9	1	1,1	0,3	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	1	2	12
258	2,1	2,6	2,5	1,7	1	0,3	0,7	0,6	2,5	1,9	0,7	0,8	1,3	2	1,1	1,1	0,3	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	12
259	1,9	2,3	2,2	1,4	1	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,5	0,7	1,2	1,7	1,2	1	0,3	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,5	1	2	12
260	1,8	2,3	2,2	1,5	0,9	0,3	0,5	0,4	2,2	1,8	0,6	0,8	1,2	1,8	1	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,3	0,2	0,4	0,5	1	2	12
261	2	2,4	2,4	1,6	0,9	0,3	0,6	0,5	2,3	1,9	0,6	0,7	1,2	1,9	1,1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	12
262	2	2,5	2,4	1,6	1	0,3	0,6	0,5	2,4	1,9	0,6	0,8	1,3	1,9	1,1	1,2	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	12
263	2,1	2,6	2,5	1,7	1	0,3	0,6	0,6	2,5	2	0,6	0,8	1,4	2,1	1,1	1,2	0,3	0,1	0,3	0,4	0,4	0,3	0,5	0,6	1	2	12
264	2,1	2,5	2,5	1,6	1	0,3	0,7	0,6	2,5	1,9	0,6	0,8	1,3	2,1	1,1	1,2	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,5	0,6	1	2	12
265	2	2,3	2,3	1,5	0,9	0,2	0,6	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,9	1	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,6	1	2	12
266	1,9	2,3	2,2	1,5	0,8	0,3	0,5	0,4	2,2	1,8	0,6	0,7	1,1	1,9	1,1	1	0,2	0,1	0,3	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	12
267	1,8	2,1	2,1	1,4	0,8	0,3	0,5	0,4	2,1	1,6	0,5	0,6	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,4	0,6	1	2	12
268	1,6	2	2	1,3	1	0,3	0,4	0,3	1,9	1,7	0,5	0,6	1,1	1,5	1	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	1	2	12

Приложение А17

Морфометрические показатели крыловой пластинки линии «Белгород» при рентген и гамма-облучении разными дозами. Часть 8

269	1,6	2	2	1,3	0,8	0,3	0,6	0,5	1,9	1,5	0,5	0,6	1	1,5	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	1	2	12
270	1,6	2	2	1,3	0,8	0,3	0,5	0,4	2	1,5	0,5	0,6	1,1	1,6	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,3	0,5	1	2	12
271	1,5	1,9	1,9	1,2	0,7	0,2	0,5	0,4	1,9	1,5	0,5	0,6	1	1,4	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,1	0,3	0,4	1	2	12
272	1,9	2,3	2,3	1,5	0,9	0,3	0,6	0,5	2,2	1,7	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	12
273	1,6	2,1	1,9	1,3	0,8	0,3	0,5	0,4	2	1,6	0,5	0,8	1,1	1,6	0,9	0,8	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	12
274	2	2,4	2,3	1,6	0,9	0,3	0,6	0,5	2,4	1,8	0,6	0,7	1,2	1,9	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	12
275	1,9	2,4	2,3	1,5	0,9	0,3	0,6	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,3	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,3	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	12
276	1,9	2,3	2,3	1,5	1	0,3	0,6	0,5	2,3	1,7	0,6	0,7	1,1	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	12
277	1,7	2,1	2,1	1,4	0,9	0,2	0,6	0,5	2	1,5	0,5	0,6	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,3	0,3	2	2	12
278	1,9	2,4	2,4	1,6	0,8	0,3	0,6	0,5	2,4	1,8	0,7	0,8	1,2	1,9	1	1,2	0,2	0,1	0,1	0,3	0,3	0,2	0,4	0,5	2	2	12
279	2,1	2,5	2,5	1,6	1,2	0,3	0,7	0,6	2,4	1,9	0,6	0,8	1,3	1,8	1,1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	12
280	1,9	2,3	2,3	1,5	0,9	0,3	0,5	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,3	1,9	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	2	2	12
281	1,9	2,3	2,3	1,5	0,9	0,2	0,6	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,3	1,8	1,1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	12
282	2	2,5	2,4	1,6	1	0,4	0,6	0,5	2,4	1,9	0,6	0,8	1,3	2	1,1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	2	2	12
283	2	2,5	2,5	1,7	1,1	0,3	0,6	0,5	2,4	1,9	0,6	0,8	1,3	1,9	1,1	1,1	0,3	0,1	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4	0,5	2	2	12
284	2	2,4	2,3	1,5	0,9	0,3	0,6	0,6	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,3	0,2	0,4	0,5	2	2	12
285	1,9	2,4	2,3	1,5	1	0,3	0,6	0,5	2,3	1,8	0,6	0,7	1,2	1,8	1	1,1	0,3	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	12
286	2	2,4	2,3	1,6	1	0,3	0,5	0,4	2,4	1,9	0,6	0,8	1,3	1,9	1,1	1,1	0,3	0,1	0,3	0,4	0,4	0,2	0,4	0,6	2	2	12
287	1,9	2,4	2,4	1,5	0,9	0,3	0,5	0,4	2,3	1,9	0,6	0,8	1,2	1,9	1,1	1,2	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	12
288	2,2	2,6	2,5	1,7	1	0,4	0,6	0,5	2,5	2	0,6	0,8	1,4	2,1	1,1	1,2	0,3	0,1	0,3	0,4	0,4	0,3	0,5	0,6	2	2	12
289	2,1	2,6	2,5	1,6	1	0,3	0,6	0,6	2,5	1,9	0,6	0,8	1,3	2	1,1	1,2	0,3	0,1	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4	0,6	2	2	12
290	1,9	2,3	2,2	1,5	0,9	0,2	0,6	0,5	2,2	1,7	0,5	0,6	1,2	1,8	0,9	1	0,2	0,1	0,3	0,3	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	12
291	1,7	2,1	2	1,4	0,8	0,3	0,5	0,5	2	1,6	0,5	0,6	1,1	1,7	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,4	0,6	2	2	12
292	1,7	2	2	1,4	0,8	0,2	0,6	0,5	2	1,5	0,5	0,6	1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,5	2	2	12
293	1,7	2,1	2,1	1,4	0,9	0,3	0,5	0,4	2	1,7	0,6	0,7	1,1	1,6	0,9	1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,5	2	2	12
294	1,6	2	2	1,3	0,7	0,3	0,5	0,5	1,9	1,5	0,5	0,6	1	1,6	0,8	1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,5	2	2	12
295	1,7	2,1	2	1,3	0,8	0,2	0,5	0,5	2	1,5	0,5	0,7	1,1	1,6	0,9	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,5	2	2	12
296	1,5	1,9	1,8	1,2	0,7	0,2	0,4	0,4	1,8	1,5	0,5	0,6	1	1,5	0,8	0,9	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	2	2	12

Кодировка линий

Белгород С14 Р	1
Белгород С14 F1	2
Биос-3 С14 Р	3
Биос-3 С14 F1	4
Биос контроль	5
Белгород контроль	6
Белгород 1000гамма	7
Белгород 2000гамма	8
Белгород 3000гамма	9
Белгород 1000рентг	10
Белгород 2000рентг	11
Белгород 3000рентг	12

Приложение A18

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по линейным и двумерным морфометрическим показателям крыла выборок различных доз рентген облучения и контроля в линии «Белгород» (показаны параметры, по которым были обнаружены достоверные отличия).

Discriminant Function Analysis Summary (Белгород f)						
No. of vars in model: 9; Grouping: line (4 grps)						
Wilks' Lambda: ,25636 approx. F (27,462)=10,161 p<0,0000						
N=170	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (3,158)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
AK	0,257858	0,994182	0,30822	0,819424	0,050767	0,949233
AB	0,270369	0,948177	2,87854	0,037839	0,009663	0,990337
AI	0,259808	0,986720	0,70885	0,548076	0,036662	0,963338
AE	0,277936	0,922362	4,43312	0,005068	0,109625	0,890375
AD	0,408049	0,628251	31,16391	0,000000	0,442893	0,557107
AT	0,270625	0,947278	2,93121	0,035357	0,673595	0,326405
AM	0,306765	0,835681	10,35580	0,000003	0,055130	0,944870
LM	0,312714	0,819782	11,57806	0,000001	0,062319	0,937681
LB	0,259489	0,987930	0,64343	0,588193	0,012211	0,987789

Discriminant Function Analysis Summary (Белгород f)						
No. of vars in model: 4; Grouping: line (4 grps)						
Wilks' Lambda: ,63310 approx. F (12,447)=7,0320 p< ,0000						
N=176	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (3,169)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
21	0,668672	0,946808	3,164807	0,025974	0,318060	0,681940
22	0,656965	0,963680	2,123159	0,099154	0,162652	0,837348
23	0,658795	0,961003	2,285955	0,080587	0,113078	0,886922
25	0,654914	0,966698	1,940646	0,124928	0,189409	0,810591

Приложение А19

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по линейным морфометрическим показателям крыла выборок различных доз гамма облучения и контроля в линии «Белгород» (показаны параметры, по которым были обнаружены достоверные отличия).

Discriminant Function Analysis Summary (Белгород f)						
No. of vars in model: 9; Grouping: line (4 grps)						
Wilks' Lambda: ,33931 approx. F (27,479)=7,9555 p<0,0000						
N=176	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (3,164)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
AK	0,346239	0,979981	1,11672	0,343975	0,049437	0,950563
AB	0,341632	0,993195	0,37453	0,771484	0,007806	0,992194
AI	0,343048	0,989097	0,60261	0,614198	0,009715	0,990285
AE	0,412175	0,823211	11,73993	0,000001	0,077210	0,922790
AD	0,375382	0,903900	5,81203	0,000846	0,506230	0,493770
AT	0,401825	0,844416	10,07232	0,000004	0,623574	0,376426
AM	0,347974	0,975093	1,39634	0,245822	0,092560	0,907440
LM	0,340420	0,996732	0,17922	0,910372	0,109782	0,890218
LB	0,339473	0,999511	0,02674	0,994075	0,017326	0,982674
Discriminant Function Analysis Summary (Белгород f)						
No. of vars in model: 3; Grouping: line (4 grps)						
Wilks' Lambda: ,07115 approx. F (9,399)=87,060 p<0,0000						
N=170	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (3,164)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
22	0,071332	0,997404	0,1423	0,934471	0,010150	0,989850
23	0,116376	0,611353	34,7525	0,000000	0,006039	0,993961
25	0,979027	0,072671	697,5828	0,000000	0,012863	0,987137

Приложение А20

Значения основных статистических параметров дискриминантного анализа по линейным морфометрическим показателям крыла выборок различных доз рентген облучения и контроля в линии «Биос-3».

Discriminant Function Analysis Summary (Биос-3 f)						
No. of vars in model: 18; Grouping: line (4 grps)						
Wilks' Lambda: ,17334 approx. F (54,534)=7,9204 p<0,0000						
N=200	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (3,179)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
AK	0,178472	0,971239	1,766917	0,155156	0,021729	0,978271
AB	0,178117	0,973176	1,644641	0,180746	0,008825	0,991175
AI	0,177401	0,977101	1,398359	0,244880	0,011747	0,988253
AE	0,191704	0,904199	6,321762	0,000424	0,060344	0,939656
AD	0,195187	0,888064	7,520670	0,000091	0,143532	0,856468
AT	0,184657	0,938705	3,896083	0,009958	0,579712	0,420288
AM	0,179235	0,967101	2,029729	0,111389	0,060928	0,939072
LM	0,177150	0,978484	1,312031	0,271988	0,092740	0,907260
LB	0,178677	0,970122	1,837612	0,141981	0,016122	0,983878
MB	0,183607	0,944074	3,534574	0,015959	0,018441	0,981559
KB	0,194323	0,892015	7,223126	0,000133	0,193957	0,806043
KI	0,175356	0,988495	0,694460	0,556556	0,174241	0,825759
KE	0,178152	0,972980	1,656939	0,178001	0,049293	0,950707
KD	0,191910	0,903230	6,392548	0,000387	0,054229	0,945771
KF	0,178695	0,970026	1,843700	0,140898	0,092192	0,907808
IE	0,175091	0,989991	0,603253	0,613699	0,074158	0,925843
FC	0,184717	0,938402	3,916575	0,009696	0,399578	0,600422
MN	0,173908	0,996724	0,196129	0,898933	0,637573	0,362427

Discriminant Function Analysis Summary (Биос-3 f)						
No. of vars in model: 6; Grouping: line (4 grps)						
Wilks' Lambda: ,45273 approx. F (18,540)=9,7138 p<0,0000						
N=200	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (3,191)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
21	0,477383	0,948357	3,46699	0,017302	0,239434	0,760566
22	0,459041	0,986251	0,88755	0,448591	0,200022	0,799978
23	0,479105	0,944949	3,70913	0,012603	0,091515	0,908485
24	0,551993	0,820174	13,95919	0,000000	0,163330	0,836669
25	0,500914	0,903807	6,77611	0,000229	0,118451	0,881549
26	0,473184	0,956774	2,87641	0,037370	0,107461	0,892539

